

東京工科大学

博士学位論文

還元型および酸化型コエンザイム Q10 の食品中含量と

経口摂取後の吸収プロセスにおける酸化還元状態

2023 年 3 月

久保 博司

目次

略語表	2
第1章 序論	3
第2章 食品中の還元型および酸化型コエンザイム Q10 含有量の測定法の構築	6
2.1 背景・目的	6
2.2 実験方法	7
2.3 結果・考察	9
2.4 まとめ	13
第3章 食品中の還元型および酸化型コエンザイム Q10	15
3.1 背景・目的	15
3.2 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の食品中含量 (実験1)	15
3.2.1 実験方法	15
3.2.2 結果・考察	16
3.3 食品の加熱等の処理による CoQ10 の酸化還元状態の変化 (実験2)	23
3.3.1 実験方法	23
3.3.2 結果・考察	24
3.4 まとめ	26
第4章 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の経口摂取後の酸化還元状態	28
4.1 背景・目的	28
4.2 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の経口摂取後の消化管内での酸化還元状態 (実験1)	28
4.2.1 実験方法	28
4.2.2 結果	31
4.3 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の経口摂取後の腸管膜リンパ中での酸化還元状態 (実験2)	42
4.3.1 実験方法	42
4.3.2 結果	42
4.4 考察	43
4.5 まとめ	46
第5章 結論	48
参考文献	49

略語表

CoQ :	Coenzyme Q (コエンザイム Q)
CoQ10 :	Coenzyme Q10
CoQ9 :	Coenzyme Q9
Q10H :	Ubiquinol-10 (ユビキノール-10)、還元型 CoQ10
Q10 :	Ubiquinone-10 (ユビキノン-10)、酸化型 CoQ10
Q9H :	Ubiquinol-9 (ユビキノール-9)、還元型 CoQ9
Q9 :	Ubiquinone-9 (ユビキノン-9)、酸化型 CoQ9
HPLC :	High Performance Liquid Chromatography (高速液体クロマトグラフィー)
ECD :	Electrochemical Detector (電気化学検出器)
CV :	Coefficient of Variation (変動係数)
SD :	Standard Deviation (標準偏差)
SE :	Standard Error (標準誤差)
AUC :	Area Under the Curve
PUFA :	Polyunsaturated Fatty Acid
P-gp :	P-glycoprotein
NPC1L1 :	Niemann-Pick C1-like1

第1章 序論

コエンザイム Q (CoQ) は、2,3-ジメトキシ-5-メチル-6 ポリプレニル-1,4-ベンゾキノン構造をもつ同族体の総称である¹⁾。1957年に米国ウィスコンシン大学の Crane らによってウシ心筋ミトコンドリアの脂質画分から単離された物質であり、また同時期に英国リバプール大学の Morton らによって多くの動物の体内に存在することが報告されていた物質でもある²⁾。1958年に Folkers らによって、その化学構造が決定された³⁾。天然には、側鎖のイソプレニル単位の繰り返し数が異なる多数の同族体が存在しており、哺乳類では繰り返し数が9の CoQ9 (マウス、ラットなど) または10の CoQ10 (イヌ、ブタ、ヒトなど) が主に存在する¹⁾。CoQには酸化型と還元型があり、生体内からはどちらも検出される⁴⁾。Figure 1-1に CoQ10の酸化型と還元型の構造を示した。酸化型 CoQ10はユビキノン-10、還元型 CoQ10はユビキノール-10とも呼ばれる。CoQの主な生理作用は二つと考えられており、ミトコンドリアの電子伝達系の成分として ATP 産生に重要な役割を果たすことと、還元型が生体成分を酸化から守る脂溶性の抗酸化物質として機能することである⁵⁾。

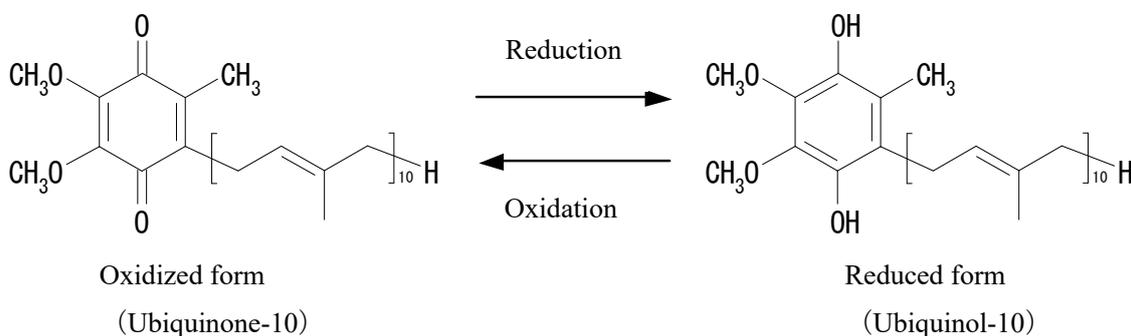


Figure 1-1. Structure of Coenzyme Q10.

ヒトの体内に存在する CoQ10 は、食事由来の外因性のものと生合成由来の内因性のものによってそのレベルが維持されていると考えられている。実際に食事からの CoQ10 摂取が全くない完全静脈栄養施行者の血清中 CoQ10 濃度を調べた例⁶⁾では、完全静脈栄養施行前の血清中濃度 $0.59 \pm 0.35 \mu\text{g/mL}$ (平均値±標準偏差、以下同) が、施行1週間後には $0.35 \pm 0.23 \mu\text{g/mL}$ に低下し、以後そのレベルが維持されたことが示されており (Figure 1-2)、少なくとも通常のヒトの血清中に存在する CoQ10 の半分程度は、食事に由来する外因性で維持されていることが推察されている。

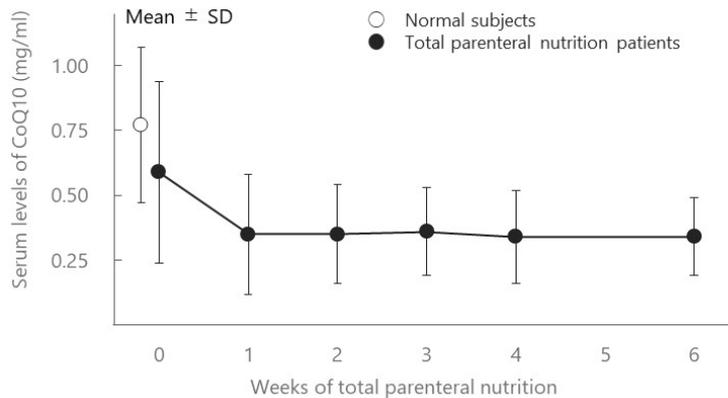


Figure 1-2. Serum levels of coenzyme Q10 in patients during total parental nutrition ⁹⁾.

CoQ10 は生合成されることから、日本人の食事摂取基準 ⁷⁾においてビタミンのような摂取の推定平均必要量や推奨量は定められていない。しかしながら、近年 CoQ の生合成経路が明らかになるにつれて、多くの CoQ 欠損症が知られるようになってきており ^{8,9)}、またその一部では CoQ10 の経口摂取によりその症状に改善が認められることが明らかになってきている。また、生合成遺伝子の変異を伴わない疾病においても、CoQ10 の摂取による臨床的な症状改善が複数報告されている ^{10, 11, 12)}。したがって、食事等により摂取される外因性の CoQ10 もヒトの健康の維持に重要な役割を果たしていると考えられる。本研究は、外因性の CoQ10 に関する基礎的な知見を得るために、ヒトが通常の食事から還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 をどの程度摂取しているのか、また還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 を経口摂取した後、体内に吸収されるまでの間の存在状態を明らかにすることを目的とする。

各種食品中の CoQ10 含有量を測定した結果が、これまでにいくつか報告されている ^{13, 14, 15, 16)}。また、その結果から、ヒトの一日の食事からの CoQ10 摂取量は 3~5 mg (デンマーク人) ¹⁴⁾、3.8~5.4 mg (フィンランド人) ¹⁵⁾と推定されている。これらの報告では、食品中の CoQ10 は全て酸化型 CoQ10 として測定されている。還元型 CoQ10 は非常に酸化されやすいため、食品からの抽出操作中の酸化を防止して還元型 CoQ10 として検出することが困難であったためであると考えられる。したがって、これまでに食品中の還元型 CoQ10 含有量を測定した報告は一部の食品に限られており ^{17, 18, 19)}、ヒトが通常摂取する食品を網羅的に調べた報告は、これまでのところない。

本研究では、各種食品中の還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の含有量を簡便に測定可能な分析系を構築することを第一の目的とし、構築した分析系を用いて各種食品中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 含有量を調べ、日本人が一日に食事から摂取する還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の量を推定することを第二の目的とした。

酸化型のユビキノール-10 は、1970 年代に工業的な製造方法が確立され、欧米では 1980 年代から栄養補助食品（サプリメント）として広く使用されてきた。日本でも、2001 年 3 月 27 日の厚生労働省による食薬区分改訂により「医薬品的効果効能を標榜しない限り食品と認められる成分本質（原材料）」と認められ、それ以降はサプリメントとしても摂取されるようになってきている。また、2000 年代に入ってから、還元型であるユビキノール-10 の工業的な製法も確立され²⁰⁾、近年は還元型 CoQ10 に特徴的な生理作用に関する報告もなされている^{21, 22, 23, 24, 25)}。

このような経緯から、現在では、外因性の CoQ10 として、一般的な食材に含まれるものに加えて、サプリメント等からも酸化型 CoQ10 および還元型 CoQ10 が経口で摂取される状況となっている。経口摂取される還元型 CoQ10 については、酸化型 CoQ10 よりも吸収性に優れることを示唆するデータがいくつか報告されている^{26, 27)}。一方で、経口摂取後の消化プロセスで還元型 CoQ10 は酸化されると考えられるとして、その吸収性は酸化型 CoQ10 摂取時と違いはないとの指摘も一部にある^{28, 29)}。実際のところ、経口摂取後、消化管腔内での酸化還元状態など血流に至るまでの動態については、詳細な知見がほとんどないのが現状である。より効果的な CoQ10 の摂取方法を構築していく上で、経口摂取後血流に至るまでの動態に対する理解も重要な要素の一つであると考えられる。そこで、本研究では、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 経口摂取後、腸管で吸収されるまでのプロセスについての基礎的知見を得ることを第三の目的とした。

第 2 章 食品中の還元型および酸化型コエンザイム Q10 含有量の測定法の構築

2.1 背景・目的

血清、組織など生体試料中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 濃度の測定方法として、主に HPLC に電気化学検出器 (ECD) を組み合わせた手法 (HPLC-ECD) がこれまでに数多く報告されている。電気化学検出がよく用いられる主な理由として、HPLC で汎用される紫外可視吸光検出と比較して検出感度、選択性に優れており生体試料中に微量に含まれる CoQ10 の検出に適していること、感度と選択性に優れているが装置が大型で高額な維持費を要する質量分析法 (LC-MS) と比較して、安価に維持可能である上に装置自体が小型であることなどが挙げられる³⁰⁾。HPLC-ECD で生体試料中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 濃度を正確に測定しようとする場合、特に次に挙げる二つの点について検討する必要がある。

一つ目は、酸化型 CoQ10 をどのようにして電気化学検出器で検出可能な還元型 CoQ10 に変換するかである。電気化学検出は、一定の電圧が印加された作用電極上における測定対象物質の酸化反応または還元反応に伴う電流を計測するものであり、これまでに報告されている HPLC-ECD による CoQ10 の測定例では、検出器作用電極上での還元型 CoQ10 の酸化反応に伴う電流が検出に利用されている。この際、酸化型 CoQ10 も合わせて同条件 (酸化反応) で検出するためには、酸化型 CoQ10 を何らかの方法により還元型 CoQ10 に変換する必要が生じる。そこで、還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の両者を含む試料抽出液を 2 つに分割し、一方はそのまま HPLC-ECD での分析に供して抽出液中に含まれる還元型 CoQ10 の濃度のみを測定し、他方は HPLC での分離前に還元剤等での処理により抽出液中に含まれる CoQ10 を全て還元型に変換した上で分析に供することで総 CoQ10 (還元型+酸化型) として濃度を測定する方法が報告されている^{31,32)}。この場合、総 CoQ10 濃度と還元型 CoQ10 濃度の差分が、酸化型 CoQ10 濃度として算出されることになる。他に、試料抽出液を分離カラムで還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 に分離した後、還元触媒カラム等で酸化型 CoQ10 を還元型 CoQ10 に変換した上で、電気化学検出器で検出する方法 (ポストカラム還元法) が報告されている^{33,34,35)}。この場合、分離カラムと電気化学検出器の間で酸化型 CoQ10 が還元型に変換されるため、一つのサンプルに対して 2 回の分析が必要となる上述の方法とは異なり、1 回の分析で還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 を測定することが可能となる。

検討を要する二つ目の点は、生体試料からの抽出操作で使用する溶媒と HPLC-ECD 分析に供する際の溶媒をどのように選択するかである。CoQ10 は脂溶性物質であるため極性の低いヘキサンを抽出溶媒として生体試料中から抽出されている例が多いが、逆相 HPLC で測定するためにはヘキサン抽出液から逆相 HPLC の移動相と相溶性のある溶媒 (エタノールなど) に置換する必要がある³³⁾。しかしながら、この溶媒置換操作時に還元型 CoQ10 の

酸化が生じるため³⁴⁾、溶媒置換操作を含む試料前処理方法では、試料中の還元型および酸化型 CoQ10 濃度を正確に把握することは困難であることが示されている。そこで、溶媒置換操作を行わず HPLC での分離に影響を与えない程度の量のヘキサン抽出液をそのまま分析する方法³⁴⁾や逆相 HPLC の移動相と相溶性がありかつ脂溶性物質も抽出可能なプロパノールを抽出溶媒に使用した方法が報告されている³⁵⁾。このプロパノールを抽出溶媒に使用する方法では、溶媒置換操作は必要ないが、試料（血漿、血清）に由来する水溶性物質まで同時に抽出され、これらが電気化学検出器での検出のバックグラウンドとなり、CoQ10 の検出が困難になるといった新たな問題が生じる。そこで、HPLC へのサンプル注入後に検出を妨害する水溶性物質をオンラインで除去するカラムスイッチングが利用されている³⁵⁾。

本検討では、以上の先行知見を踏まえた上で、簡便な試料前処理方法とシンプルな HPLC 構成による食品中の還元型および酸化型 CoQ10 濃度の同時測定を目指し、溶媒置換操作を必要としない前処理方法とポストカラム還元法を組み合わせた HPLC-ECD による分析からなる測定法の構築を行った³⁶⁾。

2.2 実験方法

試薬・検討に用いた食品マトリックス

- ・還元型 CoQ10（ユビキノール-10）、酸化型 CoQ10（ユビキノン-10）：
株式会社カネカ製（純度 99%以上）
- ・メタノール、エタノール、2-プロパノール、ヘキサン：
和光純薬製もしくはナカライテスクテスク製（HPLC グレード）
- ・牛肉（もも）、ぶり、じゃがいも、牛肉（肩）、大根：
小売店で購入したもの

標準溶液の調製

保存用標準溶液として、50 µg/mL の分析種（還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10）のエタノール溶液を調製し、-80 °C で保管した。各使用日に保存用標準溶液を 2-プロパノールで段階的に希釈した溶液を調製し、標準溶液とした。

食品の前処理方法

各食品（マトリックス）から 1 g 程度をサンプリングし細かく刻んだ。細かく刻んだ食品マトリックス 50 mg に 1.95 mL の 2-プロパノールを加え攪拌した後、ホモジナイザーを使用してホモジネートした。このホモジネート液に、2-プロパノールを加えて 2.5 倍もしくは 5 倍希釈した後、遠心分離（16,000 × g, 3 min, 4 °C）した。遠心分離後の上清（抽出液）50 µL を HPLC-ECD で分析した。

HPLC-ECD の構成と設定条件

マトリックス（食品）中の分析種（還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10）を測定する HPLC-ECD は Figure 2-1 に示すように、分離カラムで還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 を分離した後、還元触媒カラムで酸化型 CoQ10 を還元型 CoQ10 に変換（ポストカラム還元）し、電気化学検出器において還元型 CoQ10 の酸化反応に伴う電流を検出すると構成とした。

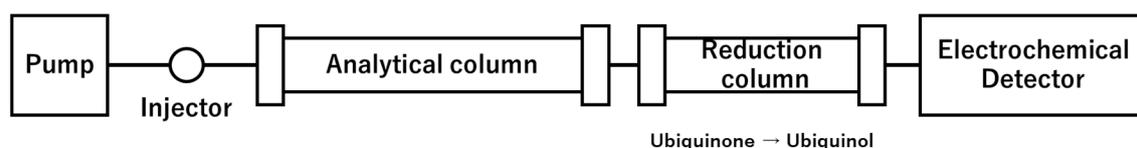


Figure 2-1. HPLC system for the detection of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in foodstuffs.

HPLC-ECD の詳細な設定条件は、以下に示した。

<HPLC 条件>

移動相： 21.06 g NaClO₄·H₂O in メタノール 2640 mL / ヘキサン 360 mL
カラム： YMC-Pack ODS-A303 (250 mm × 4.6 mm, 5- μ m particle size) + 還元触媒カラム RC-10 (資生堂製)
検出器： 電気化学検出器 Nanospace SI-2 (資生堂製) 600 mV(vs. Ag/AgCl)
カラム温度： 40°C付近の一定温度
流量： 1.0 mL/min

検量線の作成・検出限界の確認

分析種（還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10）のそれぞれについて、HPLC-ECD への注入量が 0.040～50 ng（食品分析時の含有量 0.08～100 μ g/g もしくは 0.16～200 μ g/g に相当）となる範囲内で調製した 5 本の標準溶液を分析し、電気化学検出器の応答の直線性を確認した。また、標準溶液の分析結果から本分析の検出限界を確認した。

回収率の評価

3 種のマトリックス（じゃがいも、ブリ、牛肉（もも））で調製したホモジネート液に、既知濃度の分析種（還元型 CoQ10 または酸化型 CoQ10）の溶液もしくは溶媒（2-プロパノール）を添加し、前処理操作における分析種の回収率を評価した。回収率は、次式に示すように既知濃度の分析種を添加したホモジネート希釈液分析時のピークエリアから溶媒を添加

したホモジネート希釈液分析時のピークエリアを引いた値を、同じ濃度の標準溶液分析時のピークエリアで除して算出した。還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 のいずれの添加についても、2 濃度を設定しそれぞれについて回収率を求めた。

$$\text{回収率} = \frac{\text{既知濃度添加時のピークエリア} - \text{溶媒添加時のピークエリア}}{\text{同濃度の標準溶液分析時のピークエリア}} \times 100 (\%)$$

日内変動・日間変動の評価

3 種のマトリックス（じゃがいも、ブリ、牛肉（もも））から調製したホモジネートに、既知濃度の分析種（還元型 CoQ10 もしくは酸化型 CoQ10）を添加し、日内および日間で繰り返し分析した際の真度と精度を評価した。還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 のいずれの添加についても 2 濃度を設定し、日内変動は同一日内での 3 回の分析結果、日間変動は 3 日間の分析結果により評価した。

酸化処理による食品分析時の還元型 CoQ10 のピークの確認

マトリックス（食品）中に還元型 CoQ10 が存在することを HPLC 分析時のピーク保持時間の一致とは別の観点から確認するため、酸化剤として使用される *p*-ベンゾキノン³⁷⁾ をホモジネート液に添加した時のクロマトグラムの変化を観察した。

2.3 結果・考察

食品抽出液の分析クロマトグラム

マトリックス（牛肉、じゃがいも）から調製した抽出液とそこに分析種（還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10）を添加した時の分析クロマトグラムを Figure 2-2 に示す。還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 のピークは、完全に分離しており、またそれぞれの検出を妨害するピークも観察されなかった。これらの結果から、2-プロパノール添加後、ホモジネートにより調製した食品の抽出液は、溶媒置換せずに HPLC-ECD に注入しても、還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 を検出可能であると考えられた。

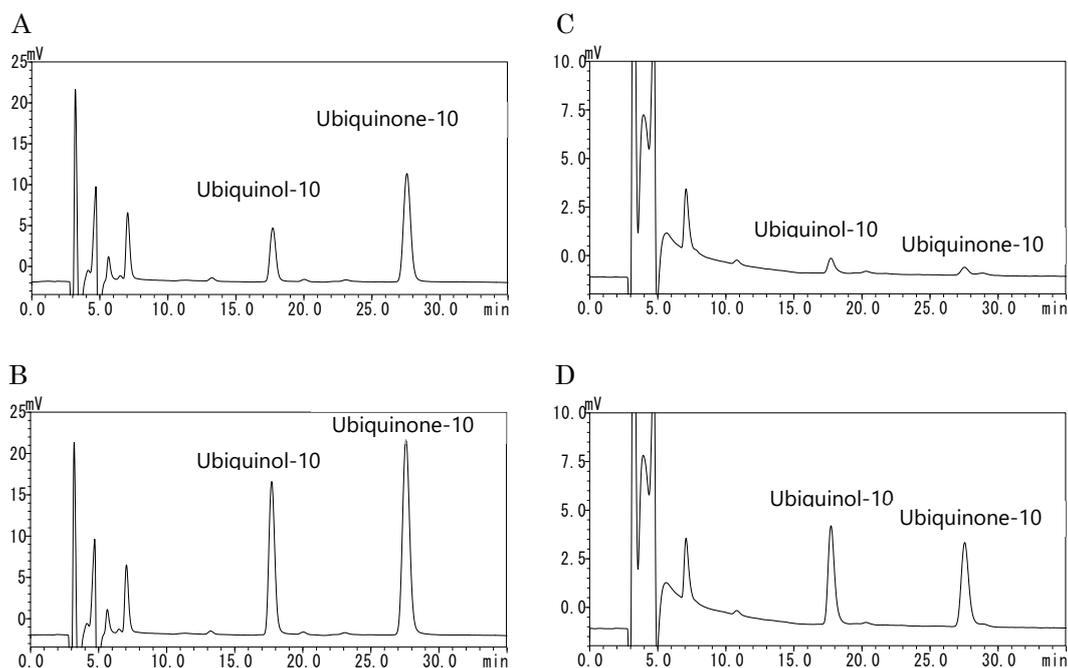


Figure 2-2. HPLC chromatograms of (A) beef shoulder extract with concentrations of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 at 12.2 and 29.7 $\mu\text{g/g}$, respectively, (B) beef shoulder extract spiked with ubiquinol-10 and ubiquinone-10 at 20 $\mu\text{g/g}$ each, (C) white potato extract with concentrations of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 at 0.73 and 0.43 $\mu\text{g/g}$, respectively, and (D) white potato extract spiked with ubiquinol-10 and ubiquinone-10 at 4.0 $\mu\text{g/g}$ each.

標準溶液の検量線

標準溶液分析時の検量線として以下に示す式が得られ、注入量 0.040~50 ng（食品分析時の含有量 0.08~100 $\mu\text{g/g}$ もしくは 0.16~200 $\mu\text{g/g}$ に相当）の範囲において良好な直線性が認められた。また、電気化学検出器での検出原理から還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 は、ほぼ同じ応答を示すと考えられるが、実際にはほぼ同一の検量線となることを確認した。

還元型 CoQ10 :

$$\text{Peak area} = 71.0 \times 10^3 \times \text{Injected analyte (ng)} - 852 \quad \text{相関係数 } 0.999$$

酸化型 CoQ10 :

$$\text{Peak area} = 70.7 \times 10^3 \times \text{Injected analyte (ng)} - 592 \quad \text{相関係数 } 0.999$$

検出限界

標準溶液の分析結果から、S/N 比=3 を検出限界とした時の還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の検出限界は、いずれも注入量 38 pg（食品分析時の含有量 0.07 $\mu\text{g/g}$ もしくは 0.15 $\mu\text{g/g}$ に

相当)であった。

回収率

3種のマトリックス(じゃがいも、ブリ、牛肉(もも))に既知濃度の分析種(還元型 CoQ10 もしくは酸化型 CoQ10)を添加した時の回収率を、Table 2-1 に示した。還元型 CoQ10 の回収率は 87%から 112%の範囲にあり、その変動係数(CV 値)は 2.2%から 21%の範囲にあった。酸化型 CoQ10 の回収率は 97%から 106%の範囲にあり、その変動係数は 0.9%から 4.9%の範囲にあった。これらの値は、AOAC ガイドライン³⁸⁾において、回収率の許容範囲として示されている 80~115% (濃度レベル 10 µg/g)、75~120% (濃度レベル 1 µg/g) の範囲内であった。

分析種の還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 のどちらの添加条件においても高い回収率(87%以上)となり、還元型 CoQ10 添加と酸化型 CoQ10 添加の間に差もみられなかったことから、サンプルの処理操作中に分析種の酸化や還元は、ほとんど起こっていないと考えられた。

Table 2-1. Recovery of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 from representative foods

	Ubiquinol-10			Ubiquinone-10		
	Spiked concentration (µg/g)	Recovery (%)		Spiked concentration (µg/g)	Recovery (%)	
		Mean ± SD ^a	CV (%)		Mean ± SD ^a	CV (%)
White potato	0.44	112 ± 3.2	2.9	0.22	101 ± 1.1	1.1
Five-ray yellowtail	4.0	104 ± 2.3	2.2	4.0	98.2 ± 1.8	1.9
Beef (thigh)	2.0	105 ± 3.1	3.0	2.96	106 ± 5.2	4.9
	18.0	98.8 ± 2.8	2.9	26.8	97.5 ± 0.9	0.9
	2.0	94.7 ± 19.6	20.7	8.8	97.4 ± 4.1	4.2
	18.0	87.8 ± 3.4	3.8	80.0	101 ± 1.0	1.0

^aResult obtained from triplicate analyses.

日内変動・日間変動

3種のマトリックス(じゃがいも、ブリ、牛肉(もも))から調製したホモジネートに、既知濃度の分析種(還元型 CoQ10 もしくは酸化型 CoQ10)を添加し、日内および日間で繰り返し分析した時の真度と精度(CV 値)を Table 2-2 に示した。日内の繰り返し分析における還元型 CoQ10 濃度の真度は 101%から 109%、精度(CV 値)は 0.3%から 9.9%の範囲にあり、酸化型 CoQ10 濃度の真度は 106%から 115%、精度(CV 値)は 0.6%から 10.7%の範囲にあった。日間の繰り返し分析における還元型 CoQ10 濃度の真度は 101%から 110%、精度(CV 値)は 2.4%から 15.4%の範囲にあり、酸化型 CoQ10 濃度の真度は 106%から 114%、精度(CV 値)は 3.0%から 13.8%の範囲にあった。本検討で得られた精度の値は、AOAC ガイドライン³⁸⁾において、再現精度の許容範囲として示されている 11%(濃度レベル 10 µg/g)、16%(濃度レベル 1 µg/g)以下であった。

Table 2-2. Within-day and between-day variations in analysis of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in representative foods

		Spiked concentration (µg/g)	Within-day		Between-day	
			Accuracy (%) ^a	CV (%)	Accuracy (%) ^a	CV (%)
White potato	Ubiquinol-10	0.44	107 ± 3.3	3.1	110 ± 8.7	7.9
		4.0	109 ± 0.7	0.6	107 ± 2.6	2.4
	Ubiquinone-10	0.22	111 ± 10.4	9.4	114 ± 15.7	13.8
		1.96	115 ± 2.9	2.5	111 ± 3.3	3.0
Five-ray yellowtail	Ubiquinol-10	2.0	101 ± 10.0	9.9	105 ± 16.2	15.4
		18.0	105 ± 4.5	4.3	102 ± 3.5	3.4
	Ubiquinone-10	2.96	106 ± 11.3	10.7	110 ± 12.0	10.8
		26.8	107 ± 3.6	3.4	106 ± 3.5	3.3
Beef (thigh)	Ubiquinol-10	2.0	107 ± 9.3	8.7	101 ± 5.4	5.4
		18.0	107 ± 0.3	0.3	101 ± 5.2	5.2
	Ubiquinone-10	8.8	110 ± 7.6	7.0	110 ± 3.9	3.5
		80.0	109 ± 0.7	0.6	106 ± 4.4	4.2

^aMean ± S.D. of triplicate analyses.

酸化処理における食品分析時の還元型 CoQ10 のピークの確認

2 種のマトリックス（ブリ、大根）から調製したホモジネートの分析クロマトグラムと、ホモジネートに酸化剤である *p*-ベンゾキノン を添加した場合の分析クロマトグラムを Figure 2-3 に示した。いずれのマトリックスにおいても、*p*-ベンゾキノン非添加時に観察された還元型 CoQ10 と考えられるピークが *p*-ベンゾキノン添加で消失し、消失に相当する量が酸化型 CoQ10 のピークとして検出された。したがって、還元型 CoQ10 の溶出位置のピークは、確かに CoQ10 によるものであると考えられた。

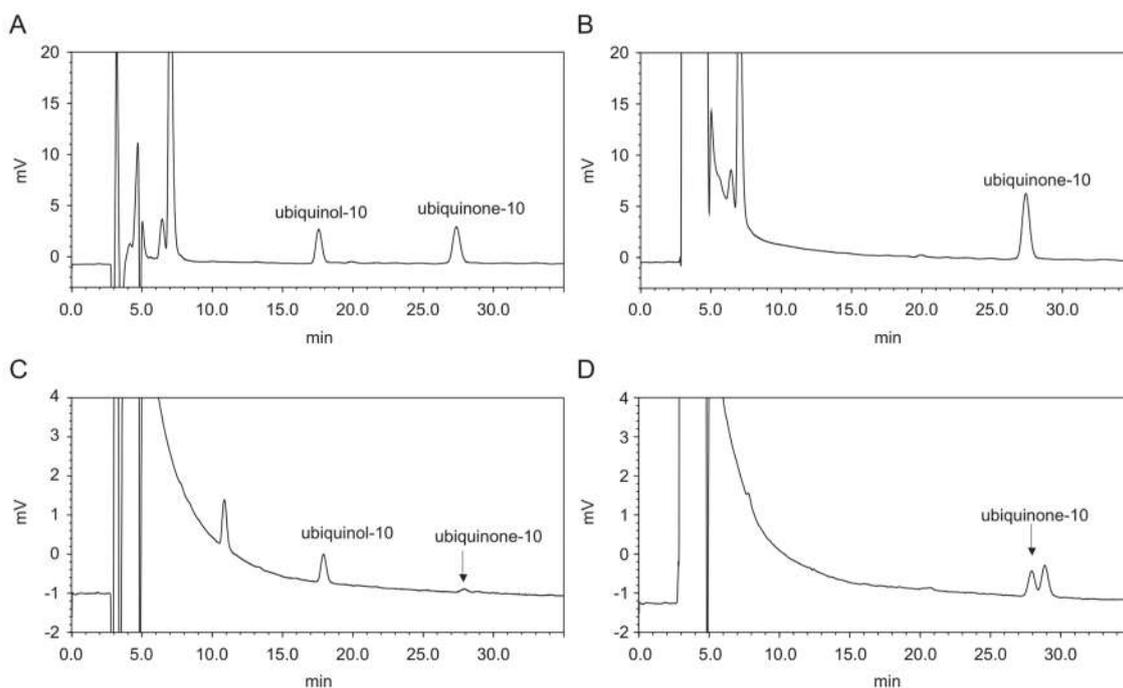


Figure 2-3. HPLC chromatograms of (A) five-ray yellowtail extract, (B) five-ray yellowtail extract treated with *p*-benzoquinone, (C) Japanese radish extract and (D) Japanese radish extract treated with *p*-benzoquinone.

ここまで示した食品マトリックス分析時のクロマトグラム、標準溶液の検量線、回収率、日内変動、日間変動に関する結果から、本分析法は食品中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 含有量の測定方法として妥当なものであると考えられた。

2.4 まとめ

本章の検討では、各種食品中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量を、簡便かつ正確に測定可能な方法を構築することを試みた。食品サンプルの前処理操作における還元型 CoQ10 の酸化の原因となる溶媒置換操作を必要としない 2-プロパノールによる抽出と、分離カラムでの分離後に酸化型 CoQ10 を電気化学検出器で検出可能な還元型 CoQ10 に変換するポストカラム還元法を組み合わせた HPLC-ECD による分析からなる測定法を構築し、3 種の食品マトリックス（じゃがいも、ブリ、牛肉（もも））を用いて、本測定法の妥当性を確認した。その結果、いずれの食品マトリックスの分析クロマトグラム上においても、還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 のどちらも定量可能な単一のピークとして確認された。既知濃度の分析種（還元型 CoQ10 もしくは酸化型 CoQ10）を添加した時の回収率は、還元型 CoQ10 で 87%から 112%の範囲にあり、酸化型 CoQ10 で 97%から 106%の範囲にあった。日内の繰

り返し分析における還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の測定値の精度（CV 値）はそれぞれ、0.3%から 9.9%の範囲、0.6%から 10.7%の範囲にあった。また 3 日間の繰返し分析における還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 の測定値の精度（CV 値）は、それぞれ、2.4%から 15.4%の範囲、3.0%から 13.8%の範囲にあった。以上の回収率と精度に関する結果は、AOAC ガイドライン³⁸⁾における許容範囲に収まっており、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 含有量測定法として妥当なものであると考えられた。

第3章 食品中の還元型および酸化型コエンザイム Q10

3.1 背景・目的

コエンザイム Q10 は様々な食品中に含まれていることが、これまでにいくつかの報告で示されている。Kamei らは、食品素材 72 品目について測定し、肉類、魚類、豆類、野菜類、油類などに CoQ10 が含まれていることを報告している¹³⁾。Weber らは、24 品目の食品素材中の CoQ10 含有量を測定し、デンマーク人の CoQ10 摂取量を推定している。その結果、食品から摂取する CoQ10 の半分程度は肉類からの摂取であり、一日あたりの摂取量は、3~5 mg と報告している¹⁴⁾。Mattila らは、35 品目の食品中の CoQ10 含有量を測定し、フィンランド人の CoQ10 摂取量を推定している。その結果、食品から摂取する CoQ10 の 60%程度は肉類からの摂取であり、一日あたりの摂取量は、男性で 5.4 mg、女性で 3.8 mg と報告している¹⁵⁾。これらの報告から、CoQ10 は様々な食品素材中に含まれており、それらの食品からヒトは一日あたり数 mg 程度を摂取していると考えられている。これらの報告では、CoQ10 は全て酸化型 CoQ10 として測定されているが、CoQ は生体内では還元型としても存在していることから⁴⁾、各種食品中にも還元型 CoQ10 が含まれており、ヒトは還元型 CoQ10 を摂取していると考えられる。しかしながら、食品中の還元型 CoQ10 含有量に関する既知のデータは、数品目の油脂類に関する報告¹⁷⁾、魚介類に関する報告¹⁸⁾、数品目の肉、魚、野菜に関する報告¹⁹⁾などに限られており、ヒトが通常の食事からどの程度の還元型 CoQ10 を摂取しているかを推定できる十分なデータはない状況である。

本検討では、日本人が日常的に食事から摂取する食品 70 品目を選定し、それらの食品中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 含有量を調べ、日本人が一日に食事から摂取する還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 および総 CoQ10 量を推定した³⁶⁾。また、各食品を分析した結果、一部の加工食品には比較的高い割合で還元型 CoQ10 が含まれることが示唆されたことから、その要因についても検討を行った³⁹⁾。

3.2 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の食品中含量 (実験 1)

3.2.1 実験方法

測定対象とした食品

日本人の一般的な食事内容を考慮し、測定対象として食品 70 品目を選定した (Table 3-1)。各食品は、小売店 (スーパーマーケット、魚屋、肉屋、八百屋) で購入し、購入の当日もしくは翌日に分析に供した。分析処理までは、小売店での陳列時と同様の温度条件 (冷蔵もしくは室温) で保管した。

Table 3-1. List of food items for analysis

	No. of items	
Meat	8	Beef (thigh), Beef (shoulder), Pork (thigh), Pork (shoulder), Chicken (breast), Chicken (thigh), Bovine liver, Chicken heart
Fish and shellfish	16	Mackerel, Sardine, Horse mackerel, Five-ray yellowtail, Young yellowtail, Cod, Flatfish, Salmon, Tuna, Scallop, Oyster, Cuttlefish, Octopus, Shrimp, Canned tuna, Fish sausage
Vegetables	21	Spinach, Broccoli, Perilla, Pumpkin, Mustard spinach, Cauliflower, Eggplant, Garlic, Lotus root, Chinese cabbage, Tomato, Cabbage, Japanese radish, Onion, Cucumber, Rape, Asparagus, Okra, Parsley, Soybean sprout, Welsh onion
Fruits	7	Orange, Grapefruit, Strawberry, Banana, Apple, Persimmon, Avocado
Pulses	6	Natto, Tofu, Adzuki bean, Soybean, Soy milk, Pea
Potatoes	3	Sweet potato, Potato, Japanese Taro
Dairy product	3	Milk, Yogurt, Cheese
Others	6	Roasted sesame seed, Almond, Hen's egg, Mushroom, Soybean oil, Miso
Total	70	

食品の前処理方法

各食品について、異なる部位 3 か所それぞれから 1 g 程度をサンプリング（肉類等）、もしくは異なる 3 個をサンプリング（豆類等）し、それらをそれぞれ細かく刻んだ。細かく刻んだサンプル 50 mg に 1.95 mL の 2-プロパノールを加え攪拌した後、ホモジナイザーを使用してホモジネートした。このホモジネート液に、2-プロパノールを加えて 2.5 倍もしくは 5 倍希釈した後、遠心分離（16,000 × g, 3 min, 4°C）した。遠心分離後の上清 50 μL を HPLC-ECD で分析した。また、全ての食品のホモジネート液に *p*-ベンゾキノンを追加したのも同様に処理し、還元型 CoQ10 のピークが消失するかを確認した。

HPLC 条件

第 2 章の 2.2 実験方法に記載の条件とした。

一日あたりの CoQ10 摂取量の算出

測定により得られた各食品中の CoQ10 含有量と平成 15 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告⁴⁰⁾における各食品の一日の平均摂取量を用いて、総 CoQ10、還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 の一日あたりの摂取量を推定した。

3.2.2 結果・考察

食品中の還元および酸化型 CoQ10 含有量

測定した 70 品目の食品中の還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10、総 CoQ10 含有量を Table 3-2 ~3-5 に示した。70 品目中 63 品目の食品において、還元型 CoQ10 が検出された。一方、酸

化型 CoQ10 は 66 品目の食品において検出された。また、還元型 CoQ10 が検出された食品サンプルのホモジネート液に *p*-ベンゾキノン を添加して分析した場合、全てのサンプルにおいて還元型 CoQ10 のピークが消失し、酸化型 CoQ10 のピークが増大することを確認した。

Table 3-2. The content of ubiquinol-10, ubiquinone-10 and total CoQ₁₀ in meat

	Content (µg/g wet weight)			% ubiquinol-10 ^{c)}
	ubiquinol-10 ^{a)}	ubiquinone-10 ^{a)}	Total CoQ ₁₀ ^{a), b)}	
Beef (thigh)	5.36 ± 0.59	25.0 ± 3.4	30.3 ± 3.9	17.6
Beef (shoulder)	11.1 ± 0.9	29.0 ± 0.7	40.1 ± 1.5	27.7
Pork (thigh)	2.63 ± 0.48	11.2 ± 2.0	13.8 ± 2.4	19.0
Pork (shoulder)	25.4 ± 1.5	19.6 ± 1.6	45.0 ± 3.0	56.4
Chicken (breast)	13.8 ± 0.5	3.24 ± 0.41	17.1 ± 0.1	81.0
Chicken (thigh)	12.6 ± 3.6	12.4 ± 3.5	25.0 ± 6.7	50.4
Bovine liver	40.1 ± 4.5	10.4 ± 2.1	50.5 ± 3.5	79.3
Chicken heart	84.8 ± 5.0	107 ± 8.2	192 ± 6.6	44.2

a) Mean ± SD of triplicate analyses

b) Total CoQ₁₀ = ubiquinol-10 + ubiquinone-10

c) % ubiquinol-10 = (ubiquinol-10 / Total CoQ₁₀) x 100

Table 3-3. The content of ubiquinol-10, ubiquinone-10 and total CoQ₁₀ in fish and shellfish (muscle tissue)

	Content (µg/g wet weight)			% ubiquinol-10 ^{c)}
	ubiquinol-10 ^{a)}	ubiquinone-10 ^{a)}	Total CoQ ₁₀ ^{a), b)}	
Mackerel	0.52 ± 0.16	10.1 ± 1.3	10.6 ± 1.3	4.9
Sardine	0.70 ± 0.04	11.2 ± 0.9	11.9 ± 0.9	5.8
Horse mackerel	23.8 ± 4.1	106 ± 4.3	130 ± 0.7	18.3
Yellowtail	6.25 ± 0.50	6.59 ± 0.52	12.8 ± 0.6	48.7
Young yellowtail	20.9 ± 7.3	12.5 ± 4.2	33.4 ± 11.5	62.6
Cod	1.71 ± 0.26	1.99 ± 0.42	3.70 ± 0.65	46.2
Flatfish	0.61 ± 0.13	1.19 ± 0.09	1.80 ± 0.16	34.0
Salmon	0.38 ± 0.16	5.35 ± 0.44	5.73 ± 0.57	6.6
Tuna	0.51 ± 0.04	4.36 ± 0.26	4.87 ± 0.22	10.5
Scallop	1.33 ± 0.23	3.62 ± 0.34	4.95 ± 0.22	27.0
Oyster	1.94 ± 0.09	1.47 ± 0.44	3.42 ± 0.54	56.9
Cuttlefish	1.84 ± 0.67	2.83 ± 0.32	4.67 ± 0.97	39.4
Octopus	2.15 ± 0.36	1.27 ± 0.17	3.42 ± 0.53	62.9
Shrimp	0.75 ± 0.11	0.91 ± 0.10	1.66 ± 0.21	45.4
Canned tuna	14.6 ± 3.0	0.29 ± 0.07	14.9 ± 3.1	98.1
Fish sausage	0.45 ± 0.03	0.80 ± 0.07	1.25 ± 0.09	35.9

a) Mean ± SD of triplicate analyses

b) Total CoQ₁₀ = ubiquinol-10 + ubiquinone-10

c) % ubiquinol-10 = (ubiquinol-10 / Total CoQ₁₀) x 100

Table 3-4. The content of ubiquinol-10, ubiquinone-10 and total CoQ₁₀ in vegetables

	Content (µg/g wet weight)			% ubiquinol-10 ^{c)}
	ubiquinol-10 ^{a)}	ubiquinone-10 ^{a)}	Total CoQ ₁₀ ^{a), b)}	
Spinach	< 0.07	0.44 ± 0.16	0.44 ± 0.16	n.d. ^{d)}
Broccoli	3.83 ± 0.06	3.17 ± 0.40	7.01 ± 0.42	54.7
Perilla	0.17 ± 0.03	1.91 ± 0.04	2.07 ± 0.04	8.1
Pumpkin	< 0.07	< 0.07	n.d.	n.d.
Mustard spinach	1.30 ± 0.33	0.73 ± 0.04	2.03 ± 0.32	64.0
Cauliflower	4.16 ± 0.83	2.46 ± 0.09	6.63 ± 0.89	62.8
Egg plant	< 0.07	0.99 ± 0.12	1.01 ± 0.10	n.d.
Garlic	2.53 ± 0.23	0.92 ± 0.22	3.45 ± 0.45	73.4
Lotus root	0.74 ± 0.08	0.22 ± 0.05	0.96 ± 0.08	77.2
Chinese cabbage	2.95 ± 0.07	1.54 ± 0.05	4.48 ± 0.04	65.7
Tomato	< 0.07	< 0.07	n.d.	n.d.
Cabbage	2.22 ± 0.27	0.85 ± 0.12	3.07 ± 0.33	72.2
Japanese radish	0.62 ± 0.12	0.10 ± 0.03	0.71 ± 0.15	86.3
Onion	0.38 ± 0.04	0.29 ± 0.00	0.67 ± 0.04	57.1
Cucumber	< 0.07	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	n.d.
Rape	4.26 ± 0.30	2.43 ± 0.07	6.70 ± 0.34	63.6
Asparagus	1.11 ± 0.28	1.05 ± 0.35	2.16 ± 0.55	51.4
Okra	< 0.07	< 0.07	n.d.	n.d.
Parsley	5.91 ± 0.30	1.57 ± 0.08	7.47 ± 0.37	79.0
Soybean sprout	0.35 ± 0.09	0.72 ± 0.06	1.06 ± 0.14	32.7
Welsh onion	0.59 ± 0.10	0.48 ± 0.27	1.07 ± 0.31	55.1

^{a)} Mean ± SD of triplicate analyses

^{b)} Total CoQ₁₀ = ubiquinol-10 + ubiquinone-10

^{c)} % ubiquinol-10 = (ubiquinol-10 / Total CoQ₁₀) x 100

^{d)} n.d. : not determined

Table 3-5. The content of ubiquinol-10, ubiquinone-10 and total CoQ₁₀ in fruits, potatoes, pulses, dairy products and other foodstuffs

	Content (µg/g wet weight)			% ubiquinol-10 ^{c)}
	ubiquinol-10 ^{a)}	ubiquinone-10 ^{a)}	Total CoQ ₁₀ ^{a), b)}	
Fruits				
Orange	0.88 ± 0.22	0.14 ± 0.07	1.02 ± 0.28	86.5
Grapefruit	1.05 ± 0.22	0.26 ± 0.06	1.30 ± 0.16	80.3
Strawberry	0.33 ± 0.09	0.18 ± 0.02	0.51 ± 0.11	65.3
Banana	0.22 ± 0.02	0.60 ± 0.03	0.82 ± 0.05	26.7
Apple	0.62 ± 0.09	0.59 ± 0.09	1.21 ± 0.02	51.0
Persimmon	0.60 ± 0.08	0.17 ± 0.03	0.77 ± 0.09	77.3
Avocado	3.14 ± 0.40	6.34 ± 0.48	9.48 ± 0.84	33.1
Potatoes				
Sweet potato	1.82 ± 0.10	1.19 ± 0.09	3.01 ± 0.15	60.5
Potato	0.68 ± 0.08	0.38 ± 0.05	1.05 ± 0.11	64.1
Japanese Taro	1.18 ± 0.11	0.62 ± 0.06	1.80 ± 0.17	65.6
Pulses				
Natto	3.60 ± 0.61	1.97 ± 0.63	5.57 ± 1.24	64.6
Tofu	1.10 ± 0.23	1.76 ± 0.07	2.86 ± 0.20	38.6
Adzuki bean	0.72 ± 0.04	1.60 ± 0.23	2.31 ± 0.22	31.0
Soybean	4.30 ± 0.48	2.52 ± 0.12	6.82 ± 0.60	63.1
Soy milk	0.94 ± 0.05	1.56 ± 0.09	2.50 ± 0.14	37.6
Pea	1.15 ± 0.11	1.19 ± 0.04	2.34 ± 0.08	49.2
Dairy products				
Milk	0.24 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.31 ± 0.01	78.2
Yogurt	0.18 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.26 ± 0.01	66.9
Cheese	0.75 ± 0.05	0.66 ± 0.04	1.41 ± 0.02	53.1
Others				
Roasted sesame seed	12.4 ± 2.3	5.24 ± 0.38	17.6 ± 2.1	70.2
Almond	1.10 ± 0.46	3.89 ± 0.49	4.99 ± 0.10	22.1
Hen's egg	0.32 ± 0.03	0.41 ± 0.04	0.73 ± 0.05	44.0
Mushroom	< 0.07	< 0.07	n.d. ^{d)}	n.d.
Soybean oil	33.3 ± 5.2	20.6 ± 2.5	53.8 ± 7.7	61.8
Miso	2.36 ± 0.50	0.10 ± 0.00	2.45 ± 0.50	96.1

a) Mean ± SD of triplicate analyses

b) Total CoQ₁₀ = ubiquinol-10 + ubiquinone-10

c) % ubiquinol-10 = (ubiquinol-10 / Total CoQ₁₀) x 100

d) n.d. : not determined

還元型 CoQ₁₀ の含有量は、肉類で 2.6~85 µg/g、魚介類で 0.38~24 µg/g、野菜で 0.17~5.9 µg/g、果物類で 0.22~3.1 µg/g、いも類で 0.68~1.8 µg/g、豆類で 0.72~4.3 µg/g、その他（種実類、卵類、乳類、大豆油、みそ）で 0.18~33 µg/g であった。還元型 CoQ₁₀ を比較的多く含んでいたのは、ブタ肉（肩）、牛（肝臓）、鶏（心臓）、アジ、ハマチ、大豆油で、これらは 20 µg/g 以上の含有量であった。総 CoQ₁₀ 含有量に対する還元型 CoQ₁₀ の割合が 70%以上と比較的高かったのは、鶏（むね肉）、牛（肝臓）、ツナ缶、にんにく、れんこん、キャベツ、大根、パセリ、オレンジ、グレープフルーツ、柿、胡麻、牛乳、味噌の 14 品目であった。特にツナ缶は、還元型の割合が 98%であり、還元型 CoQ₁₀ の含有量も 15 µg/g と比較的高い値であった。一方、本分析において、生のまぐろは還元型の割合が 11%、還元型

CoQ10の含有量が0.51 µg/gであり、まぐろの加工食品であるツナ缶の方が、還元型の割合、還元型 CoQ10の含有量ともに高い値であった。ツナ缶の分析結果の妥当性をさらに確認するために他のブランドのツナ缶 2品を追加で分析したところ、同じような還元型の割合(95%, 96%)、還元型 CoQ10の含有量(17 µg/g, 22 µg/g)であったことから、ツナ缶は比較的、還元型 CoQ10含有量が多く、還元型の割合が高い食品であると考えられた。

還元型 CoQ10は空气中で酸化されやすいにも関わらず、上述したツナ缶の他にも、豆腐(1.1 µg/g)、納豆(3.6 µg/g)、いりごま(12 µg/g)、チーズ(0.75 µg/g)、魚肉ソーセージ(0.45 µg/g)、味噌(2.4 µg/g)など加工食品において、十分検出可能な還元型 CoQ10が含まれることが明らかとなった。これらの加工食品に還元型 CoQ10が酸化されずに存在する理由は明らかではないが、共存するタンパク質に油滴球が包み込まれることによる安定化⁴¹⁾、共存する他の抗酸化成分(アスコルビン酸など)による酸化抑制、加工プロセスにおいて酸素との接触が制限される密閉容器の使用などが要因として考えられる。

酸化型 CoQ10の含有量は、肉類で3.2~107 µg/g、魚介類で0.29~106 µg/g、野菜で0.08~3.2 µg/g、果物類で0.14~6.3 µg/g、いも類で0.38~1.2 µg/g、豆類で1.2~2.5 µg/g、その他(種子、卵、乳製品、大豆油、みそ)で0.07~21 µg/gであった。総 CoQ10(還元型 CoQ10+酸化型 CoQ10)含有量は、肉類で14~192 µg/g、魚介類で1.3~130 µg/g、野菜で0.08~7.5 µg/g、果物類で0.51~9.5 µg/g、いも類で1.1~3.0 µg/g、豆類で2.3~6.8 µg/g、その他(種子、卵、乳製品、大豆油、みそ)で0.26~54 µg/gであった。

本分析で得た各食品の総 CoQ10含有量データのうち、先行の報告例^{13, 14, 15)}と共通する食品の測定値を比較したところ(Table 3-6)、抽出方法や検出法が異なっているものの、おおよそ同じような値が得られていることが確認された。

本分析で得た食品中の含有量データは、全て小売店で購入した時の状態のまま分析に供しており、調理(焼く、茹でる、揚げるなど)の影響は考慮されていない。調理による総 CoQ10含有量の変化について検討した先行例によれば、揚げた豚肉では14~32%の CoQ10含有量の減少がみられるが、野菜や卵を煮てもその含有量に変化がみられないこと¹⁴⁾、牛肉を揚げた後でも7割から8割程度の CoQ10は残存していること⁴²⁾などが示されている。食品中に含まれる還元型 CoQ10含有量に対する調理の影響は現状では明らかではないが、上述したように加工食品の多くにおいて還元型 CoQ10が含まれていたことから、調理における酸化の影響はそれほど大きくない可能性が十分考えられる。したがって、生の食材の含有量データも、ヒトの還元型 CoQ10および酸化型 CoQ10摂取量を推定する上で有用であると考えられた。なお、本検討では、分析に供した各食品の多様性(地域差、季節変動、飼育環境の違い、個体差など)を考慮しておらず、より正確な推定のためにはこれらを考慮したデータの取得が今後必要であると考えられる。

Table 3-6. Comparison among studies of total CoQ10 reported in foods

Food	Total CoQ10 content ($\mu\text{g/g}$ wet weight)			
	This study	Mattila et al., 2001	Weber et al., 1997	Kamei et al., 1986
Beef	30.3 - 40.1	36.5	31	31.0
Chicken	17.1 - 25.0	14.0	17	21.0
Fish	1.80 - 130	8.5 - 15.9	4.3 - 27	5.5 - 64.3
Tomato	n.d. ^{a)}	0.9	0.19	n.d.
Broccoli	7.01	n.d.	6.6	8.6
Cauliflower	6.63	2.7	4.9	1.4
Orange	1.02	1.4	2.2	n.d.
Apple	1.21	1.3	1.1	n.d.
Potato	1.05	0.5	0.52	1.0
Milk	0.31	0.1	n.d.	0.4
Cheese	1.41	1.2 - 1.3	< 0.16	2.1
Yogurt	0.26	2.4	1.2	n.d.
Hen's Egg	0.73	1.2	1.5	3.7

a) n.d. : not determined

日本人の一日あたりの CoQ10 摂取量および血清中濃度との関係

各食品の一日の平均摂取量を用いて、日本人の一日あたりの CoQ10 摂取量を推定した結果、総 CoQ10 として 4.5 mg となり、その内訳は還元型として 2.1 mg、酸化型として 2.4 mg と推定された (Table 3-7)。主な還元型 CoQ10 の摂取源は、肉類 (0.88 mg/day)、魚介類(0.31 mg/day)、野菜類(0.28 mg/day)、その他 (特に大豆油) (0.33 mg/day) であると考えられた。本検討で得られた日本人の一日あたりの総 CoQ10 摂取量 4.5 mg/day は、先行研究で示された値である 3~5 mg/day (オランダ人)¹⁴⁾、3.8~5.4 mg/day (フィンランド人)¹⁵⁾ とほぼ一致しており、妥当なものと考えられた。

食事を全くとらない完全静脈栄養施行患者の血清中 CoQ10 濃度の推移を調べた結果から、血清中 CoQ10 の半分程度は食事由来であることが示唆されている⁶⁾。また、CoQ10 の主な摂取源となる肉類や魚介類を摂取しないビーガン/ベジタリアンの血漿中 CoQ10 濃度は、特に制約なく通常の食事をする人よりも 0.24 $\mu\text{g/mL}$ ほど低いとの報告もあり⁴³⁾、血液中の CoQ10 量は食事の影響を受けていると考えられる。仮にヒトの通常血清中濃度を 0.6 $\mu\text{g/mL}$ としてその半分の 0.3 $\mu\text{g/mL}$ が食事由来しているとすると、0.7 mg 程度が食事から供給されていることになる (体重 60 kg とした場合)。血清以外の体内 CoQ10 濃度が食事によりどの程度影響を受けるかは不明であるが、血清だけに着目した場合、通常の食事から摂取される CoQ10 量 (本検討結果では、4.5 mg/day) で、食事由来と考えられる血清中の 0.7 mg 程度を維持することは可能と考えられる。

Table 3-7. Mean daily intake of ubiquinol-10, ubiquinone-10 and total CoQ₁₀

Individual food group	Consumption (g/day)	Mean daily intake (mg/day) ^{a)}		
		ubiquinol-10	ubiquinone-10	Total CoQ ₁₀ ^{b)}
Meat				
Beef	15.8	0.130	0.426	0.556
Pork	26.9	0.377	0.414	0.791
Chicken	20.4	0.270	0.159	0.429
Offal meat	1.6	0.100	0.094	0.194
Subtotal		0.88	1.09	1.97
Fish and shellfish				
Mackerel and sardine	11.7	0.098	0.498	0.595
Salmon	3.9	0.001	0.021	0.022
Sea bream and righteye flounder	7.0	0.008	0.011	0.019
Tuna	6.5	0.003	0.028	0.032
Other fish	9.7	0.132	0.093	0.224
Shellfish	4.5	0.007	0.011	0.019
Cuttlefish	6.2	0.012	0.013	0.025
Prawns, Shrimps and Crabs	5.4	0.004	0.005	0.009
Canned seafood	2.3	0.034	0.001	0.034
Fish paste products	11.3	0.005	0.009	0.014
Subtotal		0.31	0.69	0.99
Vegetables				
Tomato	14.9	0.000	0.000	0.000
Spinach	20.5	0.000	0.009	0.009
Other deep yellow vegetables	36.1	0.069	0.046	0.115
Cabbage	21.3	0.047	0.018	0.065
Cucumber	10.3	0.000	0.001	0.001
Japanese radish	38.6	0.024	0.004	0.028
Onion	27.2	0.010	0.008	0.018
Chinese cabbage	19.1	0.056	0.029	0.086
Other yellow vegetables	44.4	0.070	0.047	0.116
Subtotal		0.28	0.16	0.44
Fruits				
Cherries	0.10	0.000	0.000	0.000
Citrus	29.2	0.028	0.006	0.034
Banana	11.7	0.003	0.007	0.010
Apple	24.2	0.015	0.014	0.029
Other fruits	35.8	0.067	0.117	0.184
Subtotal		0.11	0.14	0.26
Potatoes				
Potatoes	7.1	0.013	0.008	0.021
Sweet potatoes	28.5	0.019	0.011	0.030
Other potatoes	22.4	0.027	0.014	0.040
Subtotal		0.06	0.03	0.09
Pulses				
Soybeans	2.1	0.009	0.005	0.014
Tofu	36.1	0.040	0.063	0.103
Natto	6.6	0.024	0.013	0.037
Soy milks	3.4	0.003	0.005	0.008
Other beans	1.7	0.002	0.002	0.004
Subtotal		0.08	0.09	0.17
Dairy products				
Milk	96.1	0.023	0.007	0.030
Cheese	1.9	0.001	0.001	0.003
Fermented milk	20.9	0.004	0.002	0.005
Subtotal		0.03	0.01	0.04
Others				
Seeds	2.1	0.014	0.010	0.024
Mushrooms	15.0	0.000	0.000	0.000
Eggs	36.6	0.012	0.015	0.027
Vegetable oils	8.3	0.276	0.171	0.447
Miso	12.4	0.029	0.001	0.030
Subtotal		0.33	0.20	0.53
Total intake		2.07	2.42	4.48

a) Estimates of the average intake of ubiquinol-10, ubiquinone-10 and total CoQ₁₀ per day were calculated based on their average contents for individual food groups (e.g. beef, chicken, citrus etc.) determined in the present study and data on the consumption of individual food groups reported in the 2003 National Nutrition Survey conducted by the Ministry of Health, Labor and Welfare in Japan.

b) Total CoQ₁₀ = ubiquinol-10 + ubiquinone-10

3.3 食品の加熱等の処理による CoQ10 の酸化還元状態の変化（実験 2）

3.3.1 実験方法

豚肉の処理（実験 2-1）

小売店で購入した豚肉を細切れにした後、2 分割した。分割した一方から、細切れにした豚肉を 50 mg サンプルングした。分割した他方は、レトルト用フードパックに入れて脱酸素処理をした後密封し、121℃、1,961 hPa の条件で 30 分間加熱処理を行い、処理後に 50 mg サンプルングした。サンプルングした豚肉は、3.2.1 実験方法に記載の方法で処理し、HPLC-ECD で分析した。

酸化型 CoQ10 を添加したまぐろの処理（実験 2-2）

小売店で購入したまぐろを細切れにした後、6 つのサンプルに分割した。分割したまぐろサンプルそれぞれに酸化型 CoQ10 の粉末を 50 µg/g となるように添加し、均一になるようにヘラを用いて混合した。その後、各サンプル（Control および No.1~5）に対して、以下の処理を行った。

- | | |
|---------|---|
| Control | 無処置 |
| No.1 | アルミ製容器に入れ、脱酸素処理した後密封し、そのまま 4℃で 1 日保管 |
| No.2 | レトルト用フードパックに入れ、脱酸素処理した後密封し、そのまま 4℃で 1 日保管 |
| No.3 | アルミ製容器に入れ、脱酸素処理した後密封し、121℃、1,961 hPa の条件で 30 分間加熱処理を行い、その後そのまま 4℃で 1 日保管 |
| No.4 | アルミ製容器に入れ密封し、121℃、1,961 hPa の条件で 30 分間加熱処理を行い、その後そのまま 4℃で 1 日保管 |
| No.5 | レトルト用フードパックに入れ、脱酸素処理した後密封し、121℃、1,961 hPa の条件で 30 分間加熱処理を行い、その後そのまま 4℃で 1 日保管 |

保管後の各サンプルから細切れになったまぐろ 50 mg を採取し、3.2.1 実験方法に記載の方法で処理し、HPLC-ECD で分析した。

酸化型 CoQ10 を添加した豚肉とアスパラガスの処理（実験 2-3）

小売店で購入した豚肉を細切れにした後、2 つに分割した。2 mg の酸化型 CoQ10 に 200 mg の食用油を添加し、約 60℃に加温して酸化型 CoQ10 を溶解、混合した。これに蒸留水を加えて総量 10 mL とし、約 60℃の加温条件下で超音波処理を行い、酸化型 CoQ10 の乳化液を調製した。この酸化型 CoQ10 の乳化液を、豚肉を細切れにした後 2 つに分割した両方に、それぞれ酸化型 CoQ10 の添加量がおおよそ 20 µg/g となるように添加した。その後、一方からは、細切れになった豚肉を 50 mg サンプルングして分析用試料とした。他方は、レト

ルト用フードパックに入れ、脱酸素処理した後密封し、121°C、1,961 hPa の条件で 30 分間加熱処理を行い、その後そのまま 4°C で保管した。保管 1 日後に細切れになった豚肉 50 mg サンプルングして、分析用試料とした。

小売店で購入したアスパラガスを細切れにした。4 mg の酸化型 CoQ10 に 200 mg の大豆油を添加し、約 60°C に加温して酸化型 CoQ10 を溶解、混合した。これに蒸留水を加えて総量 10 mL とし、約 60°C の加温条件下で超音波処理を行い、酸化型 CoQ10 の乳化液を調製した。この酸化型 CoQ10 の乳化液を細切れにしたアスパラガスに加え十分に混合した後、一部をサンプルングし分析用試料とした。残りは、アルミ製容器に入れて密封し、121°C、1,961 hPa の条件で 30 分間加熱処理を行い、その後サンプル細切れになったアスパラガスをサンプルングして分析用試料とした。

豚肉から調製した分析用試料とアスパラガスから調製した分析用試料のいずれも、3.2.1 実験方法に記載の方法で処理し、HPLC-ECD で分析した。

HPLC 条件

第 2 章の 2.2 実験方法に記載の条件とした。

3.3.2 結果・考察

豚肉の処理後の状態（実験 2-1）

処理（脱酸素・密封・加熱）前後の豚肉中に含まれる総 CoQ10 量に対する還元型 CoQ10 量の割合を、Figure 3-1 に示した。本実験で行った処理（脱酸素・密封・加熱）により、還元型 CoQ10 の割合が高まることが示唆された。

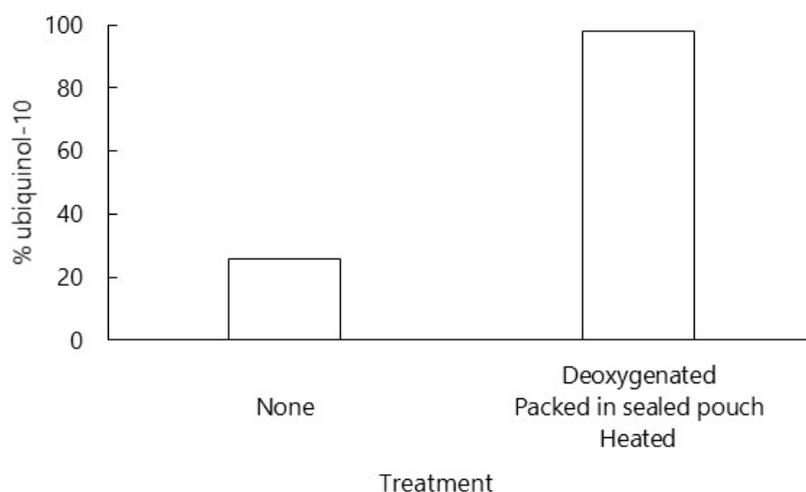


Figure 3-1. Change of ratio of ubiquinol-10 in minced pork after some treatments. % ubiquinol-10, (ubiquinol-10/Total CoQ10) x 100.

酸化型 CoQ10 を添加したまぐろの処理後の状態（実験 2-2）

酸化型 CoQ10 を添加したまぐろに対して処理を行った後、まぐろに含まれる総 CoQ10 量に対する還元型 CoQ10 量の割合を、Figure 3-2 に示した。対照サンプル（Control）および非加熱サンプル（No.1, 2）中の還元型 CoQ10 の割合が 10%前後であったのに対し、121℃、1,961 hPa の条件で 30 分間加熱処理を行ったサンプル（No.3, 4, 5）中の還元型 CoQ10 の割合は 60%以上であった。

上述の豚肉での実験結果およびこの実験結果から、少なくとも一部の食品は、密封状態での加熱処理により還元型 CoQ10 の割合が高まることが示唆された。

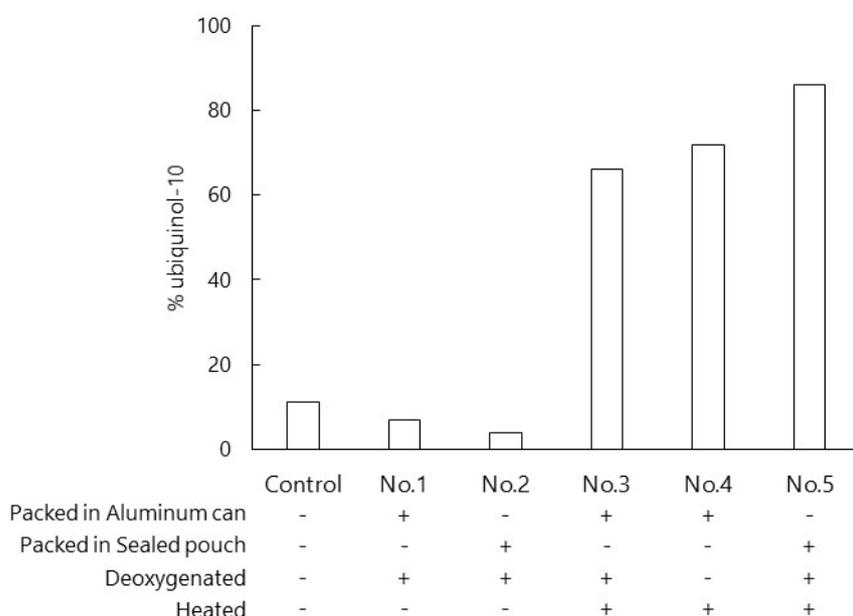


Figure 3-2. Ratio of ubiquinol-10 in minced tuna added ubiquinone-10 before and after some treatments. % ubiquinol-10, (ubiquinol-10/Total CoQ10) x 100.

酸化型 CoQ10 を添加した豚肉とアスパラガスの処理後の状態（実験 2-3）

酸化型 CoQ10 を添加した豚肉とアスパラガスに対する加熱処理前後の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量を Figure 3-3 に示した。豚肉、アスパラガスのいずれにおいても加熱処理後のサンプルにおいて、還元型 CoQ10 量が増加し、酸化型 CoQ10 量が減少しており、密封状態での加熱処理により酸化型 CoQ10 が還元されていることが示唆された。

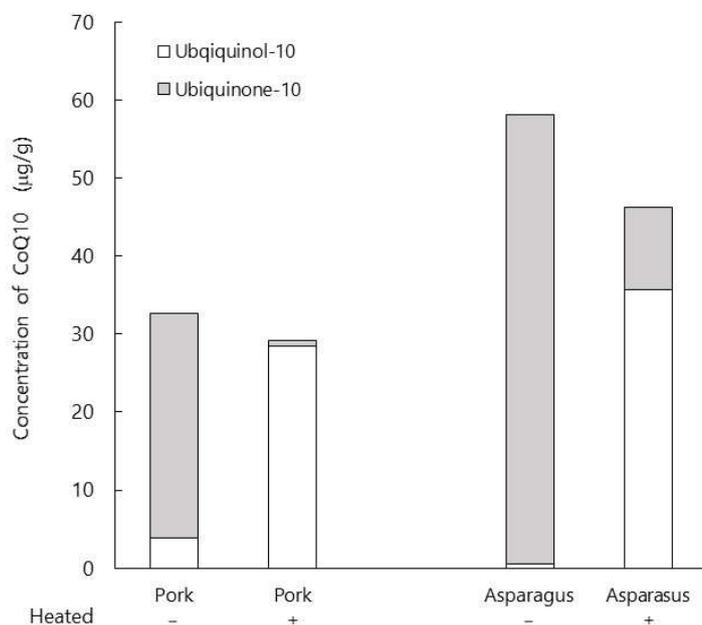


Figure 3-3. The content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in foods added ubiquinone-10 before and after heated.

以上の結果から、肉類、魚類、野菜類などの食品と酸化型 CoQ10 が共存した密封状態で加熱されると、酸化型 CoQ10 が還元される可能性が示唆された。缶詰製品は、加熱殺菌工程において食品に含まれる酸化型 CoQ10 が還元型 CoQ10 に還元され、その後ほとんど酸素に触れることのない密閉状態が維持されることにより、還元型 CoQ10 量の割合が高い状態となっている可能性が考えられた。

本検討において、密封状態での加熱処理により食品中の総 CoQ10 量に対する還元型 CoQ10 の割合および量が高まることが示唆されたが、そのメカニズムや大きく影響する要因を十分に明らかにできていない。前述のように、食品によっては調理により総 CoQ10 含有量が 2 割から 3 割程度低下することも示されており⁴²⁾、量的な変化も考慮した上での検討が今後さらに必要である。

3.4 まとめ

各種食品中の CoQ10 含有量に関する報告はこれまでにいくつかあるが、酸化型 CoQ10 として測定されたものが大半であり、還元型 CoQ10 の含有量に関するデータは少なく、ヒトが実際にどの程度の量の還元型 CoQ10 を食事から摂取しているかは明らかではなかった。

本章では、食品 70 品目（肉類 8 品目、魚介類 16 品目、野菜 21 品目、果物類 7 品目、豆類 3 品目、乳類 3 品目、その他 6 品目）の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量を調べ、日本人が一日に食事から摂取する還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 および総 CoQ10 量を推定した。その結果、70 品目中 63 品目の食品に還元型 CoQ10 が、66 品目の食品に酸化型 CoQ10 が含まれていることが明らかとなった。日本人の食事からの一日当たりの CoQ10 摂取量は、還元型 CoQ10 として 2.1 mg、酸化型 CoQ10 として 2.4 mg、総 CoQ10 として 4.5 mg と推定された。主な還元型 CoQ10 の摂取源は、肉類 (0.88 mg/day)、魚介類(0.31 mg/day)、野菜類(0.28 mg/day)、その他（特に大豆油）(0.33 mg/day)であると考えられた。

第 4 章 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の経口摂取後の酸化還元状態

4.1 背景・目的

近年、従来の酸化型 CoQ10 に加え、還元型 CoQ10 がサプリメント成分としても摂取されるようになってきており、その経口吸収性や生理的な作用に関する研究が数多く実施されてきている。

いくつかの報告において、還元型 CoQ10 を経口摂取した時の吸収性が、酸化型 CoQ10 を経口摂取した時よりも優れることが示されている^{26, 27)}。ラットを使用した試験では、還元型 CoQ10 の経口摂取後の血漿中総 CoQ10 濃度の AUC が酸化型 CoQ10 経口摂取後のそれよりも約 2 倍高いことが示されている²⁶⁾。また同様にイヌを用いた試験でも還元型 CoQ10 経口摂取後の血漿中濃度の AUC が、酸化型 CoQ10 経口摂取後の AUC の 1.4 倍程度になることが示されている²⁶⁾。さらに、ヒトでの試験において、還元型 CoQ10 を 4 週間摂取した後の血漿中濃度の増加の程度は、酸化型 CoQ10 を 4 週間摂取した時の約 2 倍になることが報告されている²⁷⁾。

一方で、還元型 CoQ10 の経口吸収性は、酸化型 CoQ10 よりも優れているわけではないとの指摘も一部にある^{28, 29)}。その理由の一つとして、還元型 CoQ10 は胃腸の消化液中では不安定であるため、経口摂取された還元型 CoQ10 は吸収部位である小腸の上皮細胞に到達する前に酸化されている可能性が挙げられている。しかしながら、この指摘は大部分が *in vitro* 試験での結果に基づいており、また適切な *in vivo* 試験で裏付けられていないことから、十分な根拠データに基づくものとは言い難い。実際のところ、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の経口摂取後の消化管腔内での酸化還元状態など、腸で吸収されるまでの動態についての詳細な知見はほとんどない。

本研究では、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 経口摂取後の消化管腔内及び小腸組織中での存在状態を把握するため、マウスを用いて検討を行った⁴⁴⁾。また、経口摂取後の腸管膜リンパ液中での存在状態についても、ラットを用いて検討した⁴⁵⁾。

4.2 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の経口摂取後の消化管内での酸化還元状態（実験 1）

4.2.1 実験方法

実験材料（試薬、動物、餌）

- ・還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10（株式会社カネカ製）
- ・マウス C57BL/6J（10 週齢、雄）
- ・マウス・ラット・ハムスター用 飼料（CE-2、日本クレア）

投与サンプル

還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 をそれぞれコーン油に溶解させ、濃度 60 mg/mL の溶液を調製した。

マウスへの投与と分析サンプルの採取

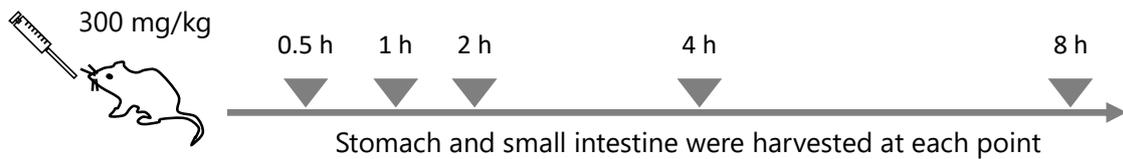
10 週齢のマウス 33 匹の内、30 匹を 15 匹ずつ 2 群に分け、一方の群には還元型 CoQ10 溶液を、他方の群には酸化型 CoQ10 溶液を、投与量が 300 mg/kg 体重となるように強制経口投与した。どちらの群も、投与後 30 分、1 時間、2 時間、4 時間、8 時間の各時点で、イソフルラン麻酔下で 3 匹を解剖し、胃および小腸を採取した (Figure 4-1)。小腸 (全長約 30 cm) は、6 cm ごとに 5 分割し、十二指腸側から順に S1、S2、S3、S4、S5 とラベルリングした (Figure 4-2)。残りの 3 匹は対照群としてサンプル投与を行わず、胃および小腸を摘出して同様に処理した。採取したサンプルは全て、分析まで -80°C で保存した。

Control Group (n=3)



Stomach and small intestine were harvested

Ubiquinol-10 Group (n=15)



Ubiquinone-10 Group (n=15)



Figure 4-1. Outline of the animal experiment.



Figure 4-2. Divided into 5 sections of the harvested small intestine.

餌の分析

ペレット状の飼料 CE-2 を砕いて粉状にした。その 50 mg に 0.95 mL の 2-プロパノールを添加し攪拌した後、遠心分離 (16,000 × g, 3 min, 4°C) した。遠心分離後の上清 50 μL を HPLC-ECD で分析した。

消化管腔内の内容物の分析

胃および5分割した小腸それぞれをはさみで切り開いた後、10 mL の生理食塩水に入れて内容物を分散させた。内容物が分散した生理食塩水から一部をサンプリングし、2-プロパノールを添加して 10 倍または 100 倍に希釈し、遠心分離 (16,000 × g, 3 min, 4°C) した。遠心分離後の上清 50 μL を HPLC-ECD で分析した。

小腸組織の分析

内容物を分散させた後の小腸組織を、別の生理食塩水で一回洗浄した後、細かく刻んだ。細かく刻んだ小腸組織 100 mg に 3.9 mL の 2-プロパノールを加え攪拌した後、ホモジナイザーを使用してホモジネートした。このホモジネート液に、2-プロパノールを加えて 10 倍希釈した後、遠心分離 (16,000 × g, 3 min, 4°C) した。遠心分離後の上清 50 μL を HPLC-ECD で分析した。

小腸組織中 CoQ10 濃度に対する洗浄回数の影響の確認

上述の小腸組織の分析における生理食塩水での洗浄回数が、小腸組織中濃度の分析結果に影響するかを確認した。上述の実験で採取した小腸組織とは別に、CoQ10 を経口投与した後のマウスから小腸組織を採取し 5 分割した。各小腸組織を長軸方向で 2 分割し、一方は生理食塩水で 1 回洗浄し、他方は生理食塩水で 2 回洗浄した。その後、上述の方法で抽出操作を行い、小腸組織中の CoQ10 濃度を測定した。

HPLC 条件

第 2 章の 2.2 実験方法に記載の条件とし、さらに還元型 CoQ9、酸化型 CoQ9 の溶出時間も確認した上で、これらも測定した。

4.2.2 結果

餌の CoQ9 および CoQ10 含有量

本実験に用いた餌 (CE-2) 中の CoQ9、CoQ10 濃度は、それぞれ $8.2 \pm 1.8 \mu\text{g/g}$ 、 $1.4 \pm 0.3 \mu\text{g/g}$ (mean \pm SE (n = 3)) であった。

小腸組織中濃度に対する洗浄回数の影響

小腸組織を生理食塩水で 1 回洗浄した時と 2 回洗浄した時の CoQ10 濃度を、5 つの小腸組織サンプルで比較したところ、いずれのサンプルでもほぼ同じ CoQ10 濃度であった (Figure 4-3)。この結果から、小腸組織の生理食塩水での洗浄回数は 1 回とした。

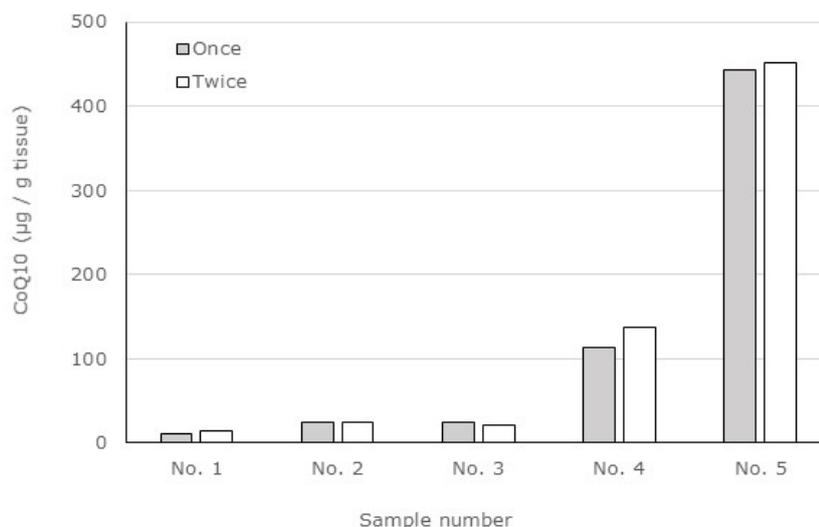


Figure 4-3. Influence of the number of small intestine tissue washes on the CoQ10 level in the small intestine tissue. Gray and white bars indicate the level of CoQ10 in the small intestine sections that were washed once and twice with physiological saline, respectively. Five small intestine tissues (No.1–5) obtained 2–4h after the administration of CoQ10 were examined.

対照群マウスの消化管腔内の CoQ9、CoQ10 量と小腸組織中 CoQ9、CoQ10 濃度

対照群 (無処置) マウスの消化管の内容物分析時のクロマトグラムを Figure 4-4 に示した。Figure 4-5 には、対照群 (無処置) マウス 3 匹の消化管腔内の還元型 CoQ9、酸化型 CoQ9、還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 量を示した。胃内と 5 分割した小腸の各管腔内の総 CoQ10 量

は、0.3~2.7 μg の範囲にあり、総 CoQ9 量のおおよそ 5 分の 1 であった。

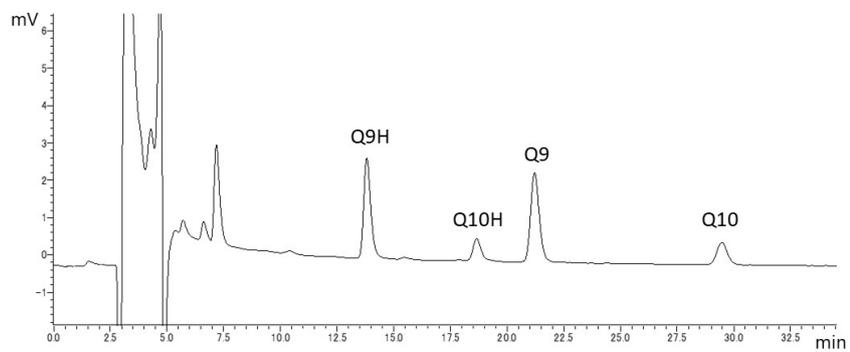


Figure 4-4. Typical HPLC chromatogram of gastrointestinal content of mice in the control group.

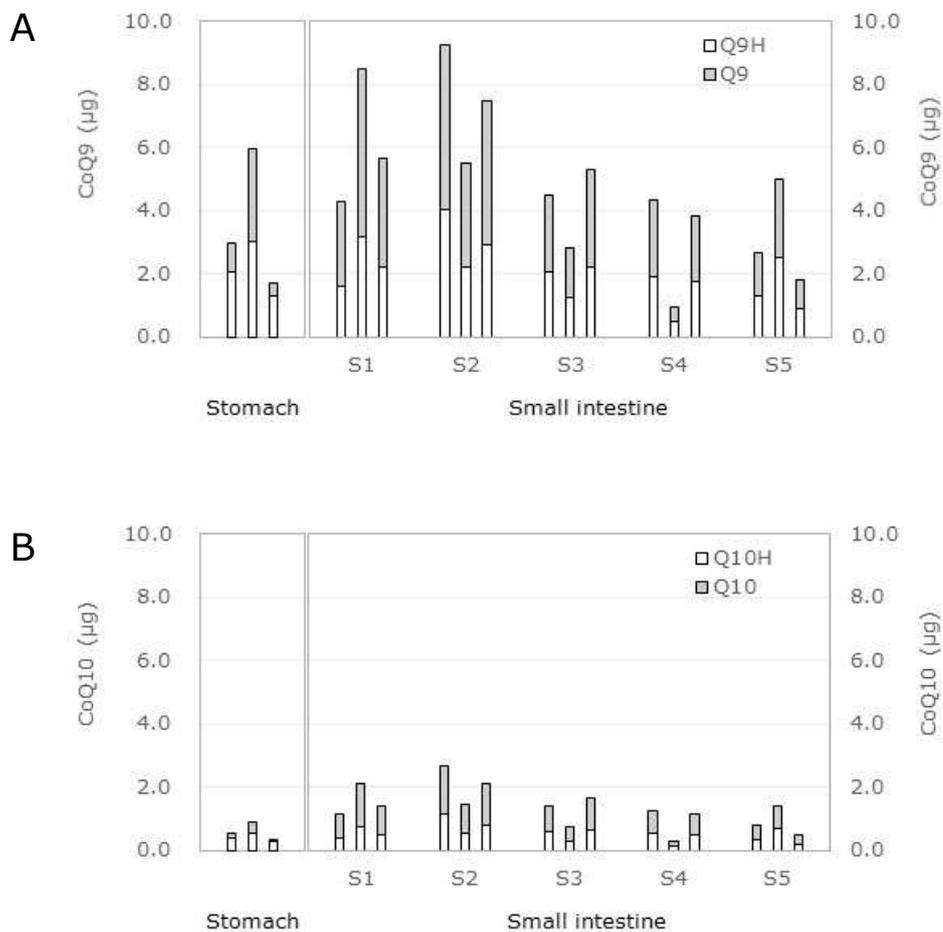


Figure 4-5. Amounts of CoQ9 (A) and CoQ10 (B) in the gastrointestinal content of mice in the control group. White bars are the amount of reduced form of CoQ (Q9H, Q10H), while gray bars are the amount of oxidized form of CoQ (Q9, Q10). The left-vertical axis is for the content of the stomach and the right-vertical axis is for the content of the small intestine. S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. Three bars in each section were from three mice.

対照群（無処置）マウスの小腸組織中の還元型 CoQ9、酸化型 CoQ9、還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 濃度を Figure 4-6 に示した。総 CoQ10 濃度は、5~12 µg の範囲にあり、総 CoQ9 濃度のおよそ 4分の1であった。また総 CoQ10 濃度に対する還元型 CoQ10 の割合はおよそ 25%であった。

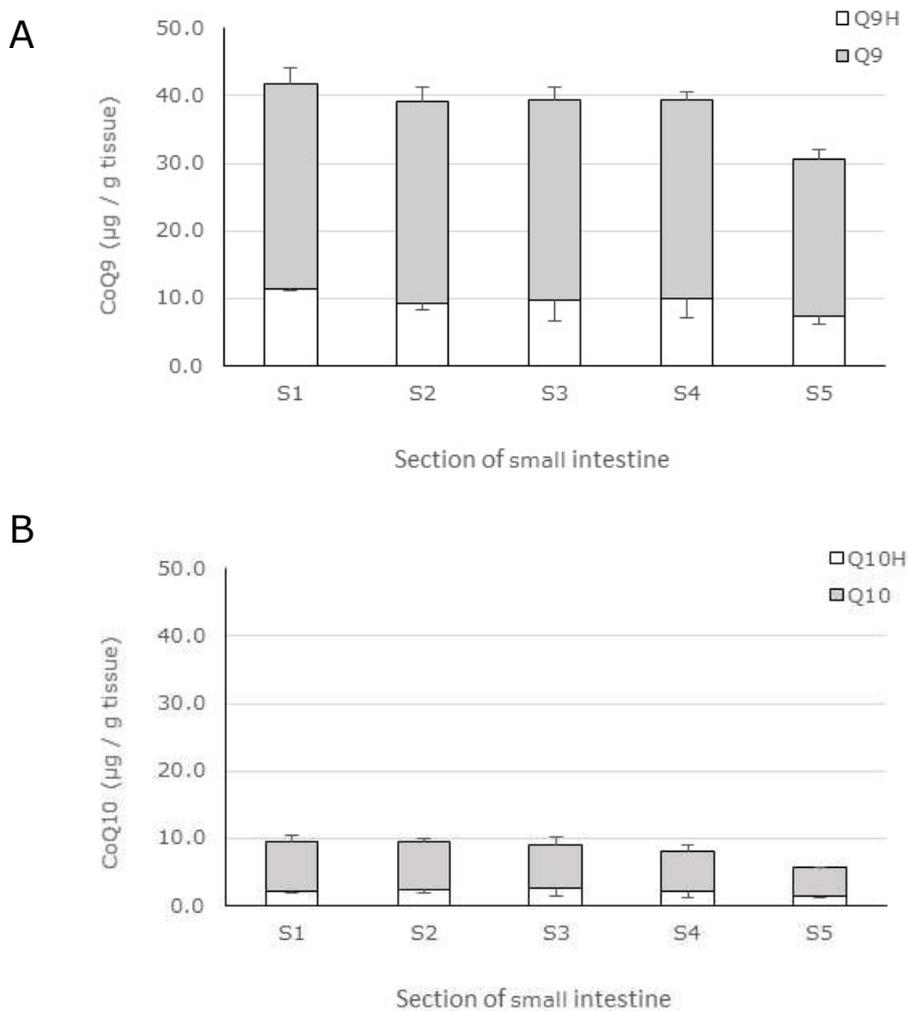


Figure 4-6. Levels of CoQ9 (A) and CoQ10 (B) in each section of small intestine tissue of mice in the control group. White bars are the reduced form of CoQ (Q9H, Q10H), while gray bars are the oxidized form of CoQ (Q9, Q10). S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. The values are mean \pm SE (n = 3).

還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 経口投与後の消化管腔内の CoQ10 量と存在状態

還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 経口投与後の消化管腔内の還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 量を Figure 4-7-1～Figure 4-7-5 に示した。経口投与 30 分後では主に胃および小腸上部の管腔内において、経口投与 1～2 時間後では小腸上部から下部までの管腔内全体において、経口投与 4 時間後では主に小腸下部の管腔内において、CoQ10 量の増加がみられた。経口投与 8 時間後には、小腸管腔内全体で CoQ10 量は対照群と同程度のレベル近くまで減少した。還元型 CoQ10 経口投与時は、胃、小腸のいずれの部位の管腔内においても、CoQ10 は主に還

元型 CoQ10 として検出された。一方、酸化型 CoQ10 経口投与時は、胃、小腸のいずれの部位の管腔内においても、CoQ10 は主に酸化型 CoQ10 として検出された。いずれの時点においても管腔内の CoQ9 量は、対照群とほぼ同じ量であった。各条件において、胃および小腸管腔内で検出された還元型 CoQ10 量、酸化型 CoQ10 量、総 CoQ10 量の平均値を Table 4-1 にまとめた。

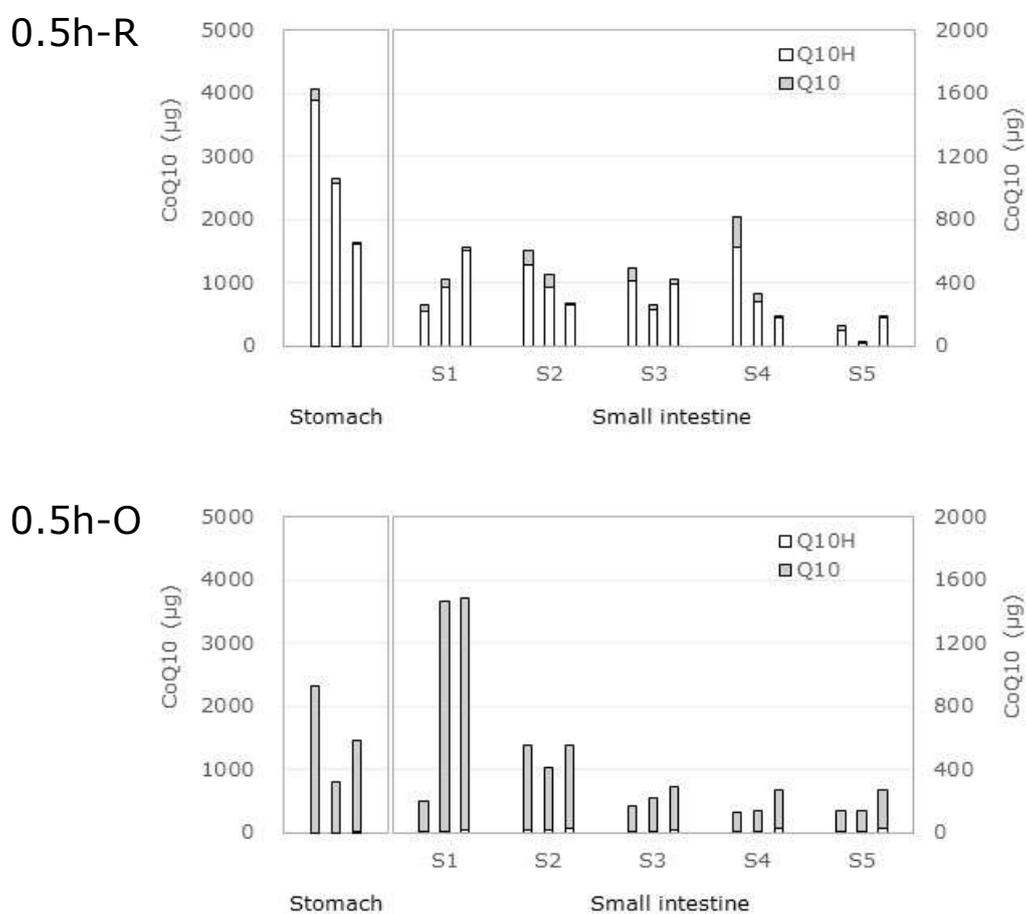
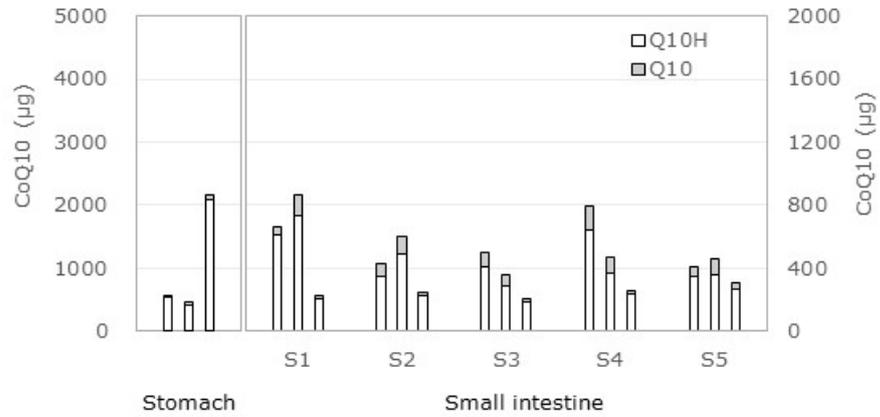


Figure 4-7-1. Amount of CoQ10 in the gastrointestinal content after administration of CoQ10. 0.5 h after administration of ubiquinol-10 (0.5h-R), ubiquinone-10 (0.5h-O). White bars are the amount of reduced form of CoQ10 (Q10H), while gray bars are the amount of oxidized form of CoQ10 (Q10). The left-vertical axis is for the content of the stomach and the right-vertical axis is for the content of the small intestine. S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. Three bars in each section are from three mice.

1h-R



1h-O

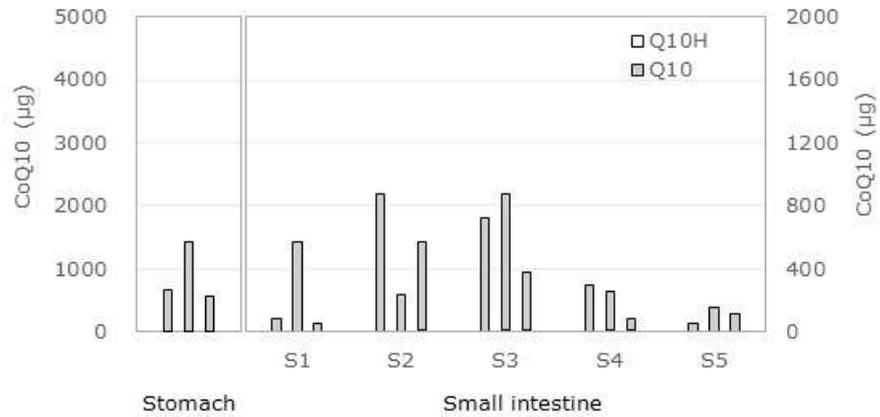
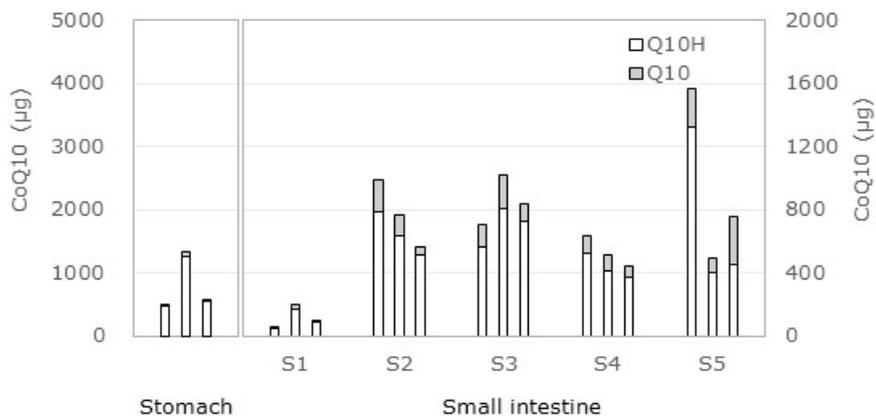


Figure 4-7-2. Amount of CoQ10 in the gastrointestinal content after administration of CoQ10. 0.5 h after administration of ubiquinol-10 (1h-R), ubiquinone-10 (1h-O). White bars are the amount of reduced form of CoQ10 (Q10H), while gray bars are the amount of oxidized form of CoQ10 (Q10). The left-vertical axis is for the content of the stomach and the right-vertical axis is for the content of the small intestine. S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. Three bars in each section are from three mice.

2h-R



2h-O

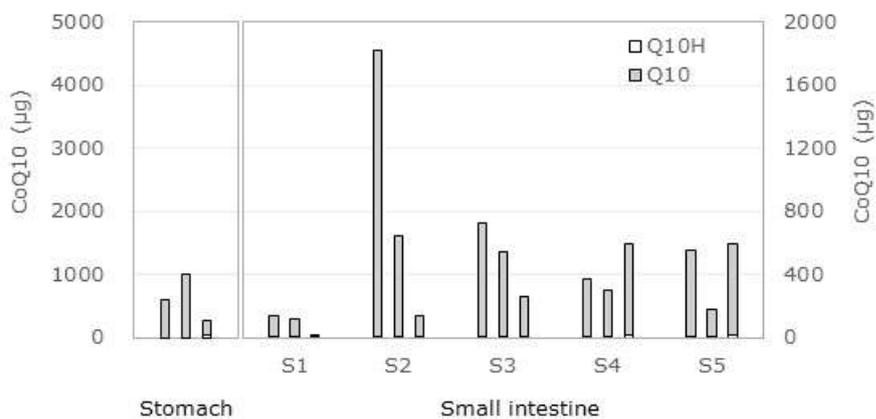
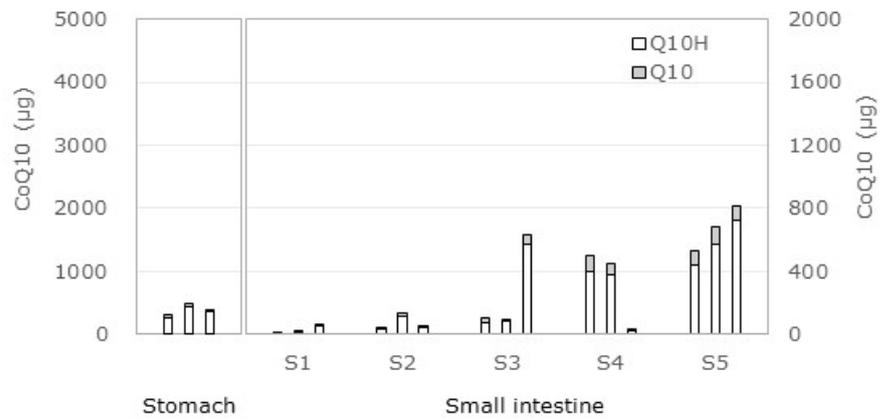


Figure 4-7-3. Amount of CoQ10 in the gastrointestinal content after administration of CoQ10. 0.5 h after administration of ubiquinol-10 (2h-R), ubiquinone-10 (2h-O). White bars are the amount of reduced form of CoQ10 (Q10H), while gray bars are the amount of oxidized form of CoQ10 (Q10). The left-vertical axis is for the content of the stomach and the right-vertical axis is for the content of the small intestine. S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. Three bars in each section are from three mice.

4h-R



4h-O

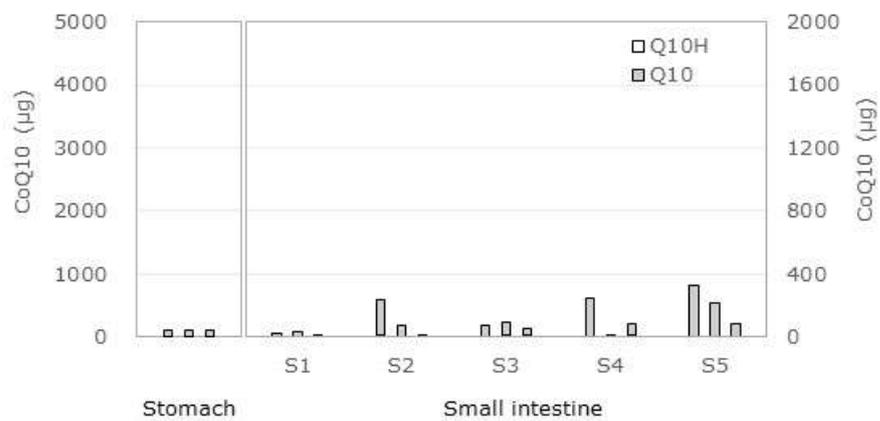
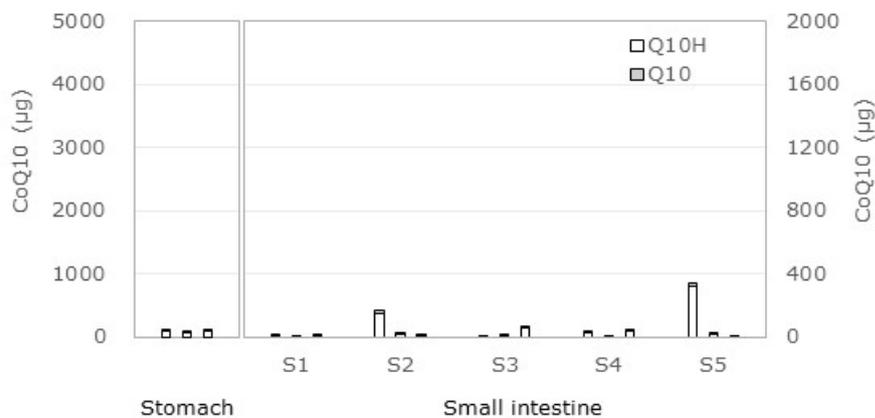


Figure 4-7-4. Amount of CoQ10 in the gastrointestinal content after administration of CoQ10. 0.5 h after administration of ubiquinol-10 (4h-R), ubiquinone-10 (4h-O). White bars are the amount of reduced form of CoQ10 (Q10H), while gray bars are the amount of oxidized form of CoQ10 (Q10). The left-vertical axis is for the content of the stomach and the right-vertical axis is for the content of the small intestine. S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. Three bars in each section are from three mice.

8h-R



8h-O

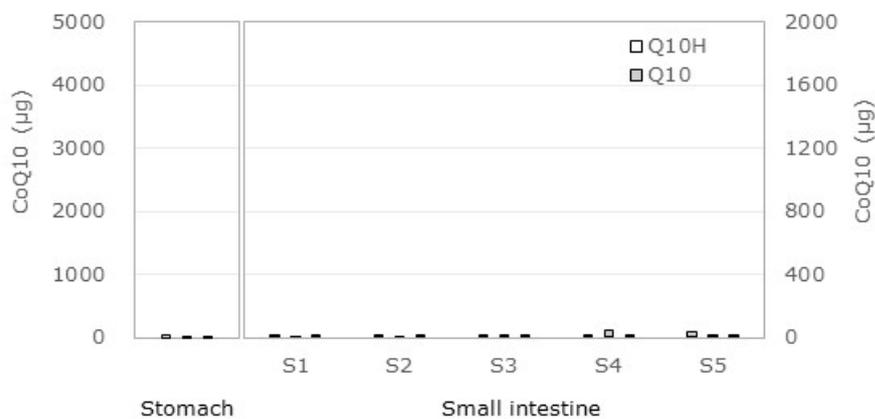


Figure 4-7-5. Amount of CoQ10 in the gastrointestinal content after administration of CoQ10. 0.5 h after administration of ubiquinol-10 (8h-R), ubiquinone-10 (8h-O). White bars are the amount of reduced form of CoQ10 (Q10H), while gray bars are the amount of oxidized form of CoQ10 (Q10). The left-vertical axis is for the content of the stomach and the right-vertical axis is for the content of the small intestine. S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. Three bars in each section are from three mice.

Table 4-1. Summary of amount of CoQ10 in the gastrointestinal content before and after CoQ10 administration

Administration		Amount of CoQ10 (μg)							
		Stomach	Small intestine						
			S1	S2	S3	S4	S5		
None (Control)	Q10H	0.40 \pm 0.07	0.53 \pm 0.10	0.81 \pm 0.17	0.49 \pm 0.11	0.38 \pm 0.12	0.41 \pm 0.14		
	Q10	0.19 \pm 0.09	1.02 \pm 0.19	1.27 \pm 0.17	0.75 \pm 0.15	0.52 \pm 0.19	0.48 \pm 0.13		
	Total CoQ10	0.59 \pm 0.16	1.54 \pm 0.29	2.08 \pm 0.34	1.25 \pm 0.26	0.90 \pm 0.31	0.89 \pm 0.27		
Ubiquinol-10	0.5h	Q10H	2695 \pm 666	395 \pm 111	380 \pm 74	344 \pm 57	361 \pm 137	97 \pm 46	
		Q10	92 \pm 36	40 \pm 8.9	62 \pm 23	48 \pm 20	85 \pm 55	14 \pm 5.6	
		Total CoQ10	2788 \pm 702	435 \pm 105	442 \pm 95	393 \pm 69	446 \pm 192	111 \pm 49	
	1h	Q10H	1023 \pm 539	519 \pm 157	357 \pm 77	296 \pm 63	415 \pm 121	327 \pm 27	
		Q10	41 \pm 8.0	66 \pm 37	69 \pm 27	61 \pm 23	92 \pm 39	65 \pm 19	
		Total CoQ10	1065 \pm 547	585 \pm 190	426 \pm 103	357 \pm 86	507 \pm 158	392 \pm 45	
	2h	Q10H	756 \pm 256	102 \pm 35	642 \pm 79	698 \pm 73	434 \pm 45	728 \pm 299	
		Q10	48 \pm 15	16 \pm 7	132 \pm 42	153 \pm 32	98 \pm 14	210 \pm 63	
		Total CoQ10	804 \pm 271	118 \pm 42	773 \pm 121	851 \pm 92	532 \pm 58	938 \pm 323	
	4h	Q10H	360 \pm 46	25 \pm 15	64 \pm 25	243 \pm 163	269 \pm 123	577 \pm 83	
		Q10	39 \pm 9	3.8 \pm 0.8	11 \pm 4	33 \pm 15	57 \pm 28	100 \pm 7	
		Total CoQ10	399 \pm 48	29 \pm 15	75 \pm 29	276 \pm 178	327 \pm 151	677 \pm 82	
	8h	Q10H	78 \pm 12	4.2 \pm 2.9	55 \pm 46	20 \pm 17	23 \pm 12	109 \pm 104	
		Q10	14 \pm 4	1.8 \pm 0.8	10.2 \pm 6.9	4.1 \pm 2.5	3.2 \pm 1.7	9.0 \pm 7.4	
		Total CoQ10	92 \pm 8	5.9 \pm 3.7	65 \pm 53	24 \pm 19	26 \pm 13	118 \pm 111	
	Ubiquinone-10	0.5h	Q10H	2.6 \pm 1.6	11 \pm 3.6	17 \pm 3.7	13 \pm 3.5	15 \pm 6.7	14 \pm 4.6
			Q10	1529 \pm 442	1038 \pm 426	488 \pm 44	212 \pm 34	163 \pm 39	169 \pm 41
			Total CoQ10	1531 \pm 443	1050 \pm 427	505 \pm 46	225 \pm 37	178 \pm 46	184 \pm 45
1h		Q10H	1.7 \pm 0.4	4.8 \pm 1.8	9.8 \pm 1.4	12.7 \pm 1.9	9.5 \pm 3.5	5.8 \pm 2.4	
		Q10	885 \pm 271	232 \pm 170	551 \pm 187	648 \pm 146	204 \pm 69	104 \pm 26	
		Total CoQ10	887 \pm 270	237 \pm 169	561 \pm 187	661 \pm 146	214 \pm 65	109 \pm 28	
2h		Q10H	14 \pm 13	5.7 \pm 1.5	7.7 \pm 1.3	5.5 \pm 0.3	7.7 \pm 3.6	10.4 \pm 5.4	
		Q10	609 \pm 228	85 \pm 37	860 \pm 499	505 \pm 136	414 \pm 86	430 \pm 129	
		Total CoQ10	623 \pm 217	91 \pm 38	868 \pm 500	511 \pm 136	421 \pm 89	441 \pm 133	
4h		Q10H	2.5 \pm 1.7	3.2 \pm 1.3	9.1 \pm 4.1	8.6 \pm 2.2	5.4 \pm 2.9	6.7 \pm 1.6	
		Q10	108 \pm 2	15 \pm 8	97 \pm 62	65 \pm 11	107 \pm 72	204 \pm 73	
		Total CoQ10	111 \pm 2	18 \pm 9	106 \pm 66	74 \pm 11	113 \pm 73	210 \pm 72	
8h		Q10H	0.24 \pm 0.14	1.1 \pm 0.2	2.0 \pm 0.9	1.6 \pm 0.4	4.5 \pm 1.3	3.1 \pm 0.8	
		Q10	23 \pm 13	1.6 \pm 0.2	2.9 \pm 1.7	3.5 \pm 1.3	22 \pm 9.1	19 \pm 7.9	
		Total CoQ10	24 \pm 13	2.7 \pm 0.4	4.9 \pm 2.5	5.1 \pm 1.7	27 \pm 10	22 \pm 8.5	

Q10H: ubiquinol-10, Q10: ubiquinone-10, Total CoQ10: Q10H + Q10. S1, S2, S3, S4, and S5: first, second, third, fourth, and fifth sections of the small intestine, respectively. The values are mean \pm SE (n = 3).

還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 経口投与後の小腸組織中の CoQ10 濃度

還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 経口投与2時間後における5分割した各小腸組織中の CoQ10 濃度を Figure 4-8 に示した。小腸組織中の CoQ10 濃度は、対照群 (Figure 4-6 B) と比較して、全ての分画で増加がみられた。全ての分画において、還元型 CoQ10 経口投与時は、CoQ10 は主に還元型 CoQ10 として、一方酸化型 CoQ10 経口投与時は、CoQ10 は主に酸化型 CoQ10 として検出された。

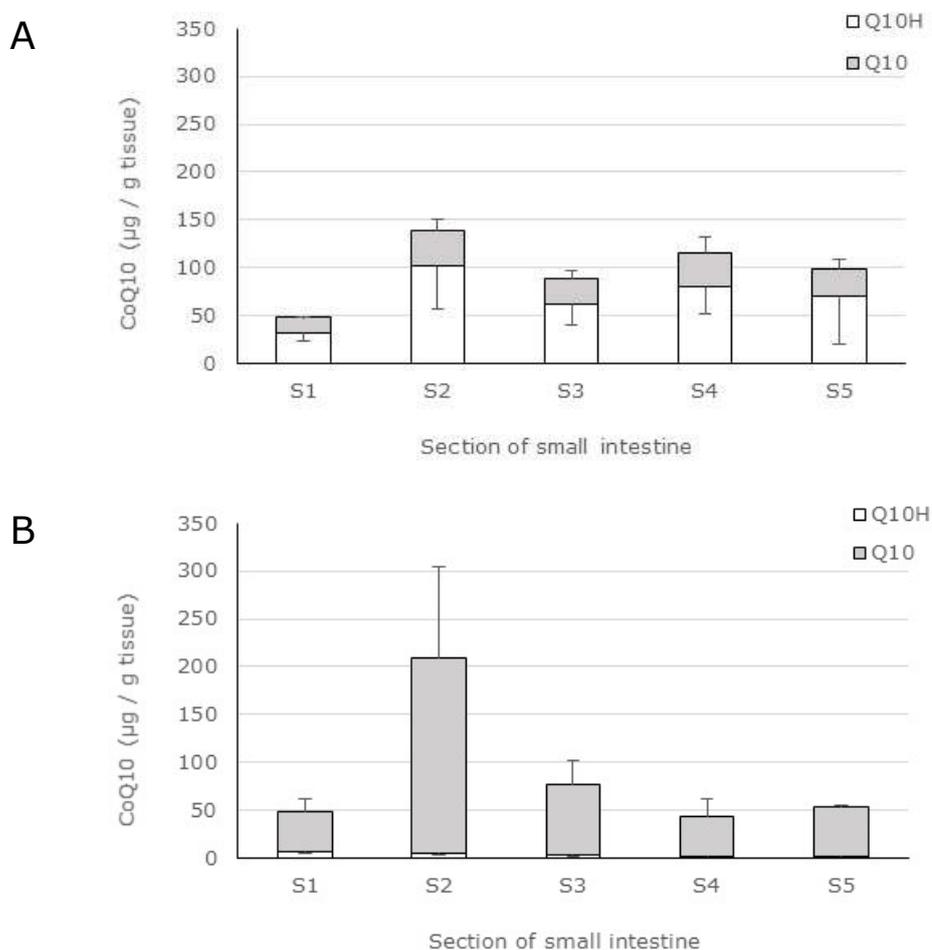


Figure 4-8. Levels of CoQ10 in each section of small intestine tissue 2 h after administration of CoQ10. Two hours after administration of ubiquinol-10 (A), ubiquinone-10 (B). White bars are the amount of reduced form of CoQ10 (Q10H), while gray bars are the amount of oxidized form of CoQ10 (Q10). S1 is the first section of the small intestine, S2 is the second, S3 is the third, S4 is the fourth, and S5 is the fifth. The values are mean \pm SE (n = 3).

4.3 還元型および酸化型コエンザイム Q10 の経口摂取後の腸管膜リンパ中での酸化還元状態（実験 2）

4.3.1 実験方法

実験材料（試薬、動物）

- ・還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10（株式会社カネカ製）
- ・ラット F344（16-18 週齢、雄）

投与サンプル

還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 をそれぞれ大豆油に溶解させ、濃度 25 mg/mL の溶液を調製した。

ラットへの投与と分析サンプルの採取

ラット 7 匹を 2 群に分け、一方の群（3 匹）には酸化型 CoQ10 溶液を、他方の群（4 匹）には還元型 CoQ10 溶液を、投与量が 100 mg/kg 体重となるように強制経口投与した。投与 90 分後に各個体から麻酔下で腸管膜リンパ液を採取した。採取したサンプルは全て、分析まで -80°C で保存した。

リンパ液の分析

リンパ液 30 μ L に 2-プロパノール 570 μ L を添加し攪拌した後、遠心分離（16,000 \times g, 3 min, 4°C）した。遠心分離後の上清 50 μ L を HPLC-ECD で分析した。

HPLC 条件

第 2 章の 2.2 実験方法に記載の条件とした。

4.3.2 結果

還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 経口投与後のリンパ液中の CoQ10 濃度

還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 の経口投与 90 分後における腸管膜リンパ中の CoQ10 濃度を Figure 4-9 に示した。リンパ液中での還元型 CoQ10 の割合の平均値は、酸化型 CoQ10 投与群で 76%、還元型 CoQ10 投与群で 94%となり、いずれの群においても経口投与 90 分後のリンパ液中では主に還元型 CoQ10 として検出された。

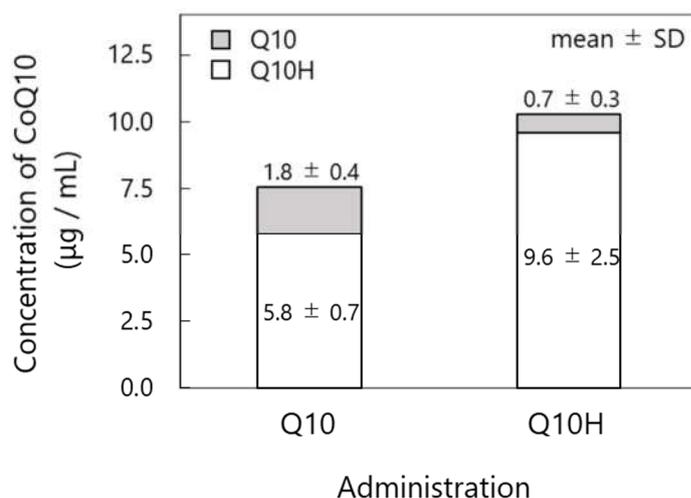


Figure 4-9. Concentration of CoQ10 in mesenteric lymph 1.5 h after administration of oxidized form of CoQ10 (Q10) or reduced form of CoQ10 (Q10H). White bars are the concentration of Q10H, while gray bars are the concentration of Q10. The values are mean \pm SD (n = 3 or 4).

4.4 考察

消化管腔内での存在状態

マウス用の飼料は CoQ10 を含んでおり、さらに Figure 4-5 で示したように通常の飼育条件において、マウスの消化管腔内には CoQ10 が存在している。したがって、経口摂取した還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 のその後の状態を把握するためには、通常条件で存在する CoQ10 を無視できる程度の量を投与する必要がある。そのため、本検討では、還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 の投与量を 300 mg/kg 体重とした。その結果、経口投与後の消化管腔内の CoQ10 量は、通常の飼育状態から大きな増加がみられ、経口摂取後の状態を把握するための投与条件として適切であると考えられた。

CoQ10 経口投与後の消化管腔内の CoQ10 量には大きな個体差がみられるが、経口投与された CoQ10 は投与後 30 分から 4 時間までの間に小腸末端の管腔内まで到達していた。還元型 CoQ10 投与時に胃および小腸管腔内で増加した CoQ10 は主に還元型 CoQ10 として存在しており、一方酸化型 CoQ10 投与時に胃および小腸管腔内で増加した CoQ10 は主に酸化型 CoQ10 として存在していた。この結果から、経口摂取された還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 の大部分は、いずれも他方に変換（酸化、還元）されることなく、小腸末端の管腔内まで到達していると考えられた。本章冒頭で述べたように、経口摂取した還元型 CoQ10 は、胃や小腸内の消化液に対して不安定であることから、小腸の上皮細胞に到達する前に酸化されているだろうとの指摘が一部にある^{28,29)}。実際にイヌを用いた実験で、還元型 CoQ10 の経

口摂取 2 時間後の小腸内に存在する総 CoQ10 における還元型の割合が 8%になっていることが、経口摂取した還元型 CoQ10 が消化管内で酸化されている一つの根拠として報告されている⁴⁶⁾。しかしながら、イヌは通常の飼育状態において CoQ10 が体内に存在しており⁴⁷⁾、またイヌが摂取する餌にも CoQ10 が含まれることは十分考えられる。したがって、経口摂取した還元型 CoQ10 のその後の状態を評価するためには、小腸内の総 CoQ10 量が、投与前と比較して増加していることを示した上で還元型の割合について論じることが必要と考えられる。しかしながら、上記のイヌを用いた実験では CoQ10 量の変化については一切示されていない。したがって、この実験結果から経口摂取した還元型 CoQ10 が小腸に到達するまでに酸化されているとの結論を導くことは困難と考えられる。一方、マウスを用いた本実験では、還元型 CoQ10 経口投与後に消化管腔内で CoQ10 量が増加していることを示した上で、その増加分はほぼ還元型 CoQ10 として検出されていることを示しており、経口摂取した還元型 CoQ10 は大部分が酸化されることなく小腸末端まで到達しているとの見方は妥当であると考えられる。

生体にとって必要不可欠な高度不飽和脂肪酸 (PUFA) は、食事由来で摂取されているものが数多くあることから、消化プロセスにおいて酸化により劣化する可能性についての検討がこれまでになされている⁴⁸⁾。実際に検討例をみると、消化プロセスにおいて PUFA が酸化される可能性は示唆されているものの、その程度はわずか(多く見積もって数%程度)であり⁴⁹⁾、食事から摂取した PUFA の大半は酸化されていないと考えられる。還元型 CoQ10 は、PUFA の酸化を抑制することができる脂溶性の抗酸化成分である。仮に、経口摂取した還元型 CoQ10 が消化プロセスにおいてほとんど酸化されるのが通常であれば、通常の食事から摂取される PUFA は小腸に到達するまでにかかなり酸化されると考えられる。しかしながら、上述のように PUFA の酸化は生じてもわずかと考えられることから、少なくともサプリメントのような形態により通常の食事からの摂取量の数十倍程度の還元型 CoQ10 を経口摂取した場合には、消化プロセスにおいて還元型 CoQ10 が酸化されたとしても、その程度はわずかであると考えられる。このような観点からも、本検討で得られた結果は、妥当なものであると考えられた。

小腸での吸収後の存在状態と経口吸収性

経口摂取後に小腸管腔内に到達した還元型 CoQ10、酸化型 CoQ10 はそれぞれ、小腸の上部から下部までのいずれに位置においても、大部分が変換(酸化、還元)されることなく、摂取された時の状態のまま小腸組織中に吸収されていると考えられた (Figure 4-8)。

一般に脂溶性成分は小腸で吸収された後、リンパ管を通して血流に至ると考えられている。そこで、小腸で吸収された後の CoQ10 の状態を把握することを狙いに、ラットを用いて酸化型 CoQ10 もしくは還元型 CoQ10 の経口摂取後の腸管膜リンパ液中の CoQ10 の存在状態を調べたところ、酸化型 CoQ10 と還元型 CoQ10 のいずれの摂取においてもリンパ液中では主に還元型 CoQ10 として存在していた (Figure 4-9)。先行の研究例においても、経口摂

取した酸化型 CoQ10 が腸管で吸収されて腸管膜リンパに到達した時には、主に還元型 CoQ10 として存在していることが報告されており⁵⁰⁾、この結果は妥当であると考えられた。したがって、小腸組織に吸収された酸化型 CoQ10 は、小腸の上皮細胞から腸管膜リンパに移行する過程で還元型 CoQ10 に還元されている可能性が考えられる。実際に、小腸は体内の臓器の中でも比較的 CoQ の還元活性が高いことが報告されており⁵¹⁾、その可能性は十分考えられる。

還元型 CoQ10 投与群と酸化型 CoQ10 投与群の間で、経口投与 2 時間後における 5 分割した各小腸組織中の CoQ10 濃度に明確な違いはみられなかった (Figure 4-8)。したがって、少なくとも今回のデータからは、還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の経口吸収性の違いが、小腸組織に取り込まれる量の違いによるものとして説明することは困難であった。培養すると小腸上皮細胞に似た単層の細胞層を形成することから薬物の透過性評価などで汎用される Caco-2 細胞を用いた検討において、還元型 CoQ10 は酸化型 CoQ10 よりも基底膜側 (Basolateral 側) に分泌されやすいことが報告されている⁵²⁾。このことから、還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の経口吸収性の違いは、小腸上皮細胞からリンパ管への移行のしやすさに起因している可能性が考えられる (Figure 4-10)。また、Caco-2 細胞を用いた別の検討では排出トランスポーターの一つである P-glycoprotein (P-gp) により CoQ10 が上部側 (Apical 側) に排泄されること⁵³⁾、P-gp の阻害により CoQ10 の取り込みが増加することが報告されている⁵⁴⁾。小腸上皮における還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の挙動については、これらの知見も踏まえ今後さらなる検討が必要である。なお、CoQ10 の経口吸収性は剤型によっても異なるとされており⁵⁵⁾、検討にあたってはこの点も考慮する必要がある。

今回取得した小腸を 5 分割した各画分中の CoQ10 濃度データでは各画分間で CoQ10 濃度に明らかな差はみられておらず、CoQ10 が小腸のどの部位で主に吸収されているのかを明らかにできていない。近年、消化管からのコレステロールの吸収には Niemann-Pick C1-like1 (NPC1L1) というトランスポーターが重要な役割を担うこと、脂質代謝症治療薬のエゼチミブは NPC1L1 を阻害することで血清コレステロール値の低下をもたらすことが明らかにされている⁵⁶⁾。また、エゼチミブによりビタミン E、ビタミン K などの脂溶性ビタミンの消化管吸収が阻害されることも示されている⁵⁶⁾。さらに、エゼチミブにより酸化型 CoQ10 の消化管吸収も阻害されることから、消化管では NPC1L1 を介して酸化型 CoQ10 が吸収されていることが示唆されている⁵⁷⁾。脂溶性ビタミン (ビタミン A、D、E、K) の腸管での吸収部位に関する検討では、ビタミン E、ビタミン K は小腸遠位部で主に吸収されていることが示唆されている⁵⁸⁾。以上の知見を踏まえると、CoQ10 はビタミン E、ビタミン K と同様のプロセスで吸収されており、また小腸遠位部が主な吸収部位である可能性が考えられる。

CoQ10 の消化管における吸収機構をより詳細に理解するためには、NPC1L1 などのトランスポーターに対する作用における還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 での差の有無、NPC1L1 をはじめとして CoQ10 との関連が示唆されるトランスポーターの消化管における発現部位

の詳細把握などが考えられ、これらは今後の検討課題である。

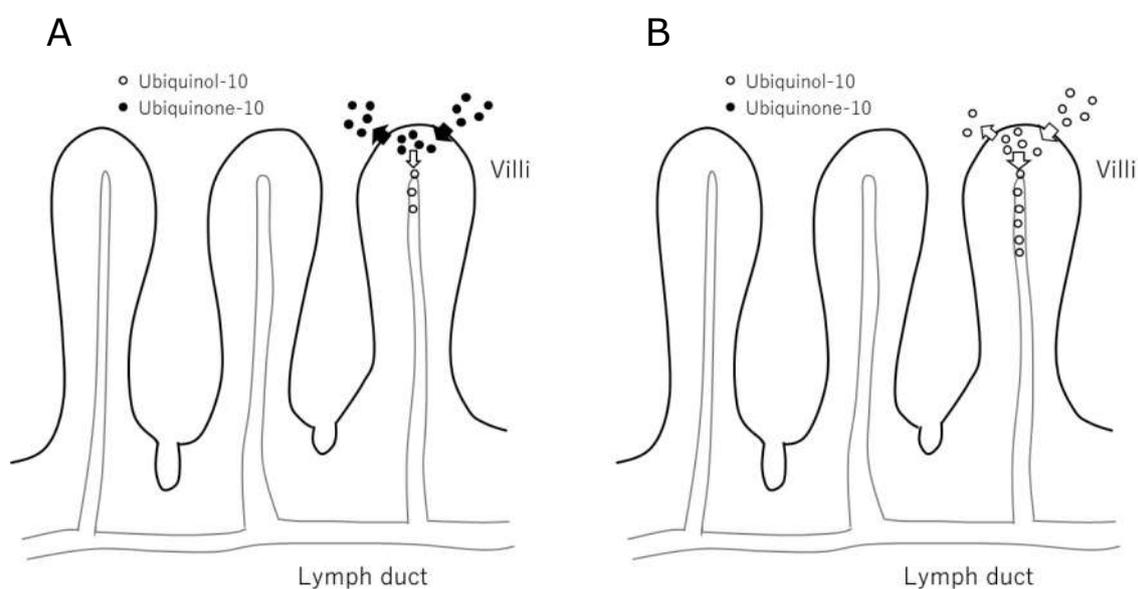


Figure 4-10. Putative mechanism for absorption of ubiquinone-10 and ubiquinol-10 in small intestine. In the case of ubiquinone-10 intake (A), ubiquinol-10 intake (B).

4.5 まとめ

CoQ10 の経口摂取後の消化管腔内での酸化還元状態など腸で吸収されるまでの動態に関する報告は、これまでほとんどない。そこで、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 経口摂取後の消化管腔内及び小腸組織中での存在状態を把握するため、マウスを用いて検討を行った。その結果、経口摂取された還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の大部分は、いずれも他方に変換（酸化、還元）されることなく、小腸末端の管腔内まで到達していると考えられた。また、経口投与 2 時間後に摘出した小腸を 5 分割して各小腸組織画分中の CoQ10 濃度を測定したところ、いずれの画分においても CoQ10 濃度の上昇が認められ、またその濃度上昇の大部分は摂取時と同じ状態で検出された。したがって、経口摂取された還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 は、小腸の上部から下部までのいずれに部位においても、ほぼ変換（酸化、還元）されることなく摂取された時の状態のまま小腸組織中に吸収されていると考えられた。

本検討では、小腸上皮において CoQ10 の取り込みに関わることが示唆されているトランスポーターに対する還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の作用の違いの有無や小腸上皮から腸管膜リンパへの分泌に至るプロセスの詳細については検討できていない。これらは、還元型

CoQ10 および酸化型 CoQ10 の経口摂取後、血流に至るまでの吸収プロセスをより詳細に理解する上での今後の検討課題である。

第5章 結論

本研究では、食事等により摂取される外因性の CoQ10 に関する基礎的な知見を得ることを目的として、簡便な食品中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量測定方法の構築検討を行った上で、ヒトにおける通常の食事からの還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の摂取量、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 を経口摂取した後、体内に吸収されるまでの間の存在状態について検討を行った。

溶媒置換操作を必要としない簡便なサンプル前処理方法とポストカラム還元法により還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 を同時測定可能な HPLC-ECD システムを組み合わせ、食品中の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量測定方法を構築した。

食品 70 品目（肉類 8 品目、魚介類 16 品目、野菜 21 品目、果物類 7 品目、豆類 3 品目、乳類 3 品目、その他 6 品目）の還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の含有量を測定し、63 品目の食品に還元型 CoQ10 が含まれていること、66 品目の食品に酸化型 CoQ10 が含まれていることを明らかにした。これらの測定結果から、日本人の食事からの一日当たりの CoQ10 摂取量は、還元型 CoQ10 として 2.1 mg、酸化型 CoQ10 として 2.4 mg、総 CoQ10 として 4.5 mg と推定された。

マウスを用いた検討により、経口摂取された還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 は、それぞれ摂取時の状態で小腸管腔内末端まで到達し、その状態で小腸組織に吸収されていると考えられた。小腸上皮において CoQ10 の取り込みに関わることが示唆されているトランスポーターに対する還元型 CoQ10 と酸化型 CoQ10 の作用の違いの有無や小腸上皮から腸管膜リンパへの分泌に至るプロセスの詳細把握については、還元型 CoQ10 および酸化型 CoQ10 の経口摂取後、血流に至るまでの吸収プロセスをより詳細に理解する上での今後の検討課題である。

参考文献

1. 松浦達也, 川崎尚. コエンザイム Q の抗酸化作用. ビタミン. 1993;**67**(2):41-50.
2. Crane FL. Discovery of ubiquinone (coenzyme Q) and an overview of function. *Mitochondrion*. 2007;**7**:S2-S7.
3. Wolf DE, Hoffman CH, Trenner NR, Arison BH, Shunk CH, Linn BO, et al. Coenzyme QI Structure studies on the coenzyme Q group. *Journal of the American Chemical Society*. 1958;**80**(17):4752.
4. Åberg F, Appelkvist E-L, Dallner G, Ernster L. Distribution and redox state of ubiquinones in rat and human tissues. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1992;**295**(2):230-4.
5. Yamamoto Y. Coenzyme Q10 as a front-line antioxidant against oxidative stress. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2005;**36**(2):29-35.
6. Okamoto T, Fukui K, Nakamoto M, Kishi T, Kanamori N, Kataoka K, et al. Serum levels of coenzyme Q10 and lipids in patients during total parenteral nutrition. *Journal of nutritional science and vitaminology*. 1986;**32**(1):1-12.
7. 日本人の食事摂取基準 (2020 年版)「日本人の食事摂取基準」策定検討会報告書. 厚生労働省. <https://www.mhlw.go.jp/content/10904750/000586553.pdf> Accessed 22 Oct 2022.
8. Quinzii CM, Emmanuele V, Hirano M. Clinical presentations of coenzyme q10 deficiency syndrome. *Molecular syndromology*. 2014;**5**(3-4):141-6.
9. Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, et al. Mutations in COQ2 in familial and sporadic multiple-system atrophy. *New England Journal of Medicine*. 2013;**369**(3):233-44.
10. Young AJ, Johnson S, Steffens DC, Doraiswamy PM. Coenzyme Q10: a review of its promise as a neuroprotectant. *CNS spectrums*. 2007;**12**(1):62-8.
11. Ryo K, Ito A, Takatori R, Tai Y, Arikawa K, Seido T, et al. Effects of coenzyme Q10 on salivary secretion. *Clinical biochemistry*. 2011;**44**(8-9):669-74.
12. Langsjoen PH, Langsjoen AM. Supplemental ubiquinol in patients with advanced congestive heart failure. *Biofactors*. 2008;**32**(1-4):119-28.
13. Kamei M, Fujita T, Kanbe T, Sasaki K, Oshiba K, Otani S, et al. The distribution and content of ubiquinone in foods. *International Journal for Vitamin and Nutrition research*. 1986; **56**(1): 57-63.
14. Weber C, Bysted A, Hlmer G. The coenzyme Q10 content of the average Danish diet. *International Journal for Vitamin and Nutrition research*. 1997;**67**(2):123-9.
15. Mattila P, Kumpulainen J. Coenzymes Q9 and Q10: contents in foods and dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2001;**14**(4):409-17.
16. Pravst I, Žmitek K, Žmitek J. Coenzyme Q10 contents in foods and fortification strategies. Critical reviews in food science and nutrition. 2010;**50**(4):269-80.

17. Cabrini L, Barzanti V, Cipollone M, Fiorentini D, Grossi G, Tolomelli B, et al. Antioxidants and total peroxy radical-trapping ability of olive and seed oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001;**49**(12):6026-32.
18. Passi S, Cataudella S, Di Marco P, De Simone F, Rastrelli L. Fatty acid composition and antioxidant levels in muscle tissue of different Mediterranean marine species of fish and shellfish. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;**50**(25):7314-22.
19. Kettawan A, Kunthida C, Takahashi T, Kishi T, Chikazawa J, Sakata Y, et al. The quality control assessment of commercially available coenzyme Q10-containing dietary and health supplements in Japan. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2007;**41**(2):124-31.
20. 上田恭義, 植田尚宏, 北村志郎, 久保博司. 還元型コエンザイム Q10 の実用化に向けた研究開発. *ビタミン*. 2015;**89**(4):181-2.
21. Yan J, Fujii K, Yao J, Kishida H, Hosoe K, Sawashita J, et al. Reduced coenzyme Q10 supplementation decelerates senescence in SAMP1 mice. *Experimental gerontology*. 2006;**41**(2):130-40.
22. Tian G, Sawashita J, Kubo H, Nishio S-y, Hashimoto S, Suzuki N, et al. Ubiquinol-10 supplementation activates mitochondria functions to decelerate senescence in senescence-accelerated mice. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014;**20**(16):2606-20.
23. Shimizu Y, Mukumoto N, Idrus N, Akasaka H, Inubushi S, Yoshida K, et al. Amelioration of radiation enteropathy by dietary supplementation with reduced coenzyme Q10. *Advances in radiation oncology*. 2019;**4**(2):237-45.
24. Yoritaka A, Kawajiri S, Yamamoto Y, Nakahara T, Ando M, Hashimoto K, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial of reduced coenzyme Q10 for Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*. 2015;**21**(8):911-6.
25. 菅野直之, 藤井健志, 川本亜紀, 望月小枝加, 伊藤聖, 吉沼直人. ユビキノール (還元型コエンザイム Q10) 含有サプリメントによる歯周病患者の口腔環境改善効果. *日本歯科保存学雑誌*. 2013;**56**(4):385-9.
26. Kitano M, Watanabe D, Oda S, Kubo H, Kishida H, Fujii K, et al. Subchronic oral toxicity of ubiquinol in rats and dogs. *International Journal of Toxicology*. 2008;**27**(2):189-215.
27. Langsjoen PH, Langsjoen AM. Comparison study of plasma coenzyme Q10 levels in healthy subjects supplemented with ubiquinol versus ubiquinone. *Clinical pharmacology in drug development*. 2014;**3**(1):13-7.
28. Mantle D, Dybring A. Bioavailability of coenzyme Q10: An overview of the absorption process and subsequent metabolism. *Antioxidants*. 2020;**9**(5):386.
29. Judy WV. The Instability of the Lipid-Soluble Antioxidant Ubiquinol: Part 1—Lab Studies. *Integrative Medicine: A Clinician's Journal*. 2021;**20**(4):24.
30. 小谷明, 宮口裕二, 宮下尚人, 楠文代, 高村喜代子, 袴田秀樹. 電気化学検出 HPLC に

- よる食品中の機能性成分の定量分析. 分析化学. 2021;**70**(7):415-26.
31. Okamoto T, Fukunaga Y, Ida Y, Kishi T. Determination of reduced and total ubiquinones in biological materials by liquid chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1988;**430**:11-9.
 32. Tang PH, Miles MV, DeGrauw A, Hershey A, Pesce A. HPLC analysis of reduced and oxidized coenzyme Q10 in human plasma. *Clinical chemistry*. 2001;**47**(2):256-65.
 33. Wakabayashi H, Yamato S, Nakajima M, Shimada K. Simultaneous determination of oxidized and reduced coenzyme Q and α -tocopherol in biological samples by high performance liquid chromatography with platinum catalyst reduction and electrochemical detection. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 1994;**17**(8):997-1002.
 34. Yamashita S, Yamamoto Y. Simultaneous detection of ubiquinol and ubiquinone in human plasma as a marker of oxidative stress. *Analytical biochemistry*. 1997;**250**(1):66-73.
 35. Hirayama A, Kubo H, Mita M, Shirota O, Yamamoto Y. High-sensitivity simultaneous analysis of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in human plasma. *Journal of chromatographic science*. 2008;**46**(8):717-21.
 36. Kubo H, Fujii K, Kawabe T, Matsumoto S, Kishida H, Hosoe K. Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2008;**21**(3):199-210.
 37. Mosca F, Fattorini D, Bompadre S, Littarru GP. Assay of coenzyme Q10 in plasma by a single dilution step. *Analytical biochemistry*. 2002;**305**(1):49-54.
 38. AOAC Int., AOAC Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. 2002.
 39. 久保博司, 品川義之, 松本朱華, 植田尚宏. 還元型補酵素 Q10 の製造方法. 特許公報 5558823, 2014.
 40. 平成 15 年国民健康・栄養調査報告. 厚生労働省 <http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/eiyou-chosa2-01/index.html> Accessed 22 Oct 2022.
 41. 小野伴忠. 大豆から豆乳・豆腐が生成する機構とそれに影響を与える諸因子 日本食品科学工学会誌. 2008;**55**(2):39-48.
 42. Ercan P, El SN. Changes in content of coenzyme Q10 in beef muscle, beef liver and beef heart with cooking and in vitro digestion. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011;**24**(8):1136-40.
 43. Hosoe K, Funahashi I. Lower plasma coenzyme Q10 concentrations in healthy vegetarians and vegans compared with omnivores. *International Journal on Nutraceuticals, Functional Foods and Novel Foods*. 2022.
 44. Kubo H, Yamamoto Y, Fujisawa A. Orally ingested ubiquinol-10 or ubiquinone-10 reaches the intestinal tract and is absorbed by the small intestine of mice mostly in its original form. *Journal*

- of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2023;**72**(2):101-106.
45. 久保博司, 川辺泰三, 松本朱華, 北野光昭, 上田恭義. 1-IV-13 還元型コエンザイム Q10 の経口吸収性に関する検討. *ビタミン*. 2015;**89**(4):236.
 46. Judy WV. The Instability of the Lipid-Soluble Antioxidant Ubiquinol: Part 2-Dog Studies. *Integr Med (Encinitas)*. 2021;**20**(5):26-30.
 47. Yerramilli-Rao P, Beal MF, Watanabe D, Kieburtz K, Blicek EAd, Kitano M, et al. Oral repeated-dose toxicity studies of coenzyme Q10 in beagle dogs. *International journal of toxicology*. 2012;**31**(1):58-69.
 48. Nieva-Echevarría B, Goicoechea E, Guillén MD. Food lipid oxidation under gastrointestinal digestion conditions: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2020;**60**(3):461-78.
 49. Gobert M, Rémond D, Loonis M, Buffière C, Sante-Lhoutellier V, Dufour C. Fruits, vegetables and their polyphenols protect dietary lipids from oxidation during gastric digestion. *Food & Function*. 2014;**5**(9):2166-74.
 50. Mohr D, Umeda Y, Redgrave TG, Stocker R. Antioxidant defenses in rat intestine and mesenteric lymph. *Redox Report*. 1999;**4**(3):79-87.
 51. Takahashi T, Yamaguchi T, Shitashige M, Okamoto T, Kishi T. Reduction of ubiquinone in membrane lipids by rat liver cytosol and its involvement in the cellular defence system against lipid peroxidation. *Biochemical journal*. 1995;**309**(3):883-90.
 52. Failla ML, Chitchumroonchokchai C, Aoki F. Increased bioavailability of ubiquinol compared to that of ubiquinone is due to more efficient micellarization during digestion and greater GSH-dependent uptake and basolateral secretion by Caco-2 cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2014;**62**(29):7174-82.
 53. Itagaki S, Ochiai A, Kobayashi M, Sugawara M, Hirano T, Iseki K. Interaction of coenzyme Q10 with the intestinal drug transporter P-glycoprotein. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;**56**(16):6923-7.
 54. Itagaki S, Ochiai A, Kobayashi M, Sugawara M, Hirano T, Iseki K. Grapefruit juice enhance the uptake of coenzyme Q10 in the human intestinal cell-line Caco-2. *Food chemistry*. 2010;**120**(2):552-5.
 55. 吉村育生. 医薬品としてのコエンザイム Q10 の開発 特集—脂溶性ビタミン研究 70 年— *ビタミン*. 2020;**94**(3):203-5.
 56. 高田龍平. ビタミン E および K の消化管吸収機構に関する研究. *ビタミン*. 2019;**93**(1):10-5.
 57. Nashimoto S, Takekawa Y, Takekuma Y, Sugawara M, Sato Y. Transport via Niemann-Pick C1 Like 1 contributes to the intestinal absorption of ubiquinone. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 2020;**35**(6):527-33.

58. Goncalves A, Roi S, Nowicki M, Dhaussy A, Huertas A, Amiot MJ, et al. Fat-soluble vitamin intestinal absorption: absorption sites in the intestine and interactions for absorption. *Food Chem.* 2015;**172**:155-60.

謝辞

本研究の遂行および本論文の作成にあたり、終始多大なご指導とご鞭撻を賜りました東京工科大学応用生物学部の藤沢章雄教授に謹んで感謝申し上げます。

東京工科大学応用生物学部元教授山本順寛先生には、1997年に東京大学先端科学技術研究センターで卒研究生としてお世話になって以来これまで長きにわたり、様々な場面でご指導、ご助言をいただきました。また、本研究の遂行および本論文の作成にあたって、終始多大なご指導とご鞭撻を賜りました。ここにあらためて深く感謝申し上げます。

本論文の審査にあたり、有益なご助言とご校閲を賜りました東京工科大学教養学環の加柴美里教授、東京工科大学応用生物学部の今井伸二郎教授、遠藤泰志教授、佐藤拓己教授に深く感謝申し上げます。

本研究の遂行および本論文の作成に対し、ご理解、ご支援をいただきました満田勝博士（元株式会社カネカ）、株式会社カネカの北野光昭博士に深く感謝いたします。

本研究の遂行および論文文化において、有益なご助言をいただきました株式会社カネカの細江和典博士、澤下仁子博士、データ取得のための分析作業を着実に進めていただいた株式会社カネカの松本朱華氏に感謝いたします。